Aus der Medizinischen Poliklinik der Universität Würzburg
Direktor: Professor Dr. med. H. Franke

ZUR FRAGE DES ENDOGENEN ABBAUES VON ENZYMPROTEINEN

INAUGURAL-DISSERTATION

verfaßt und der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von

Heinrich Mannes

aus Limburg

Würzburg 1970

Aus der Medizinischen Poliklinik der Universität Würzburg
Direktor: Professor Dr. med. H. Franke

ZUR FRAGE DES ENDOGENEN ABBAUES VON ENZYMPROTEINEN

INAUGURAL-DISSERTATION

verfaßt und der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von

Heinrich Mannes

aus Limburg

Würzburg 1970

Referent: Privatdozent Dr. med. H. Haug

Korreferent: Professor Dr. med. H. Franke

Tag der Promotion:

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Hohen Medizinischen Fakultät der
Universität Würzburg

INHALTSVERZEICHNIS

		Seite
I.	Einleitung	1
II.	Bisherige Untersuchungen über den Ort und die Geschwindigkeit des Abbaues von Plasmaenzymproteinen im Organismus	7
III.	Material und Methode	11
	1. Tiermaterial und Tierhaltung	11
	2. Versuchsaufbau und Verfahren	11
	3. Enzymaktivitätsbestimmungen	13
	a) LDH - Bestimmung b) GPT - Bestimmung c) GAPDH - Bestimmung	
	4. Berechnung der Enzymaktivitäten	16
IV.	Ergebnisse	17
	1. Vorversuche	17
	2. Hauptversuchsserien	26
	a) iv. -Applikation der Enzymsuspension b) ip. -Applikation der Enzymsuspension c) ip. -Applikation der Enzymsuspension nach Behandlung mit 6-(1-Methyl-4-nitroimidazol-5-ylthio)-purin (Imuran®) d) ip. -Applikation der Enzymsuspension nach Behandlung mit Methylprednisolon (Urbason®)	
V.	Diskussion	52
VI.	Zusammenfassung	58
VII.	Literaturverzeichnis	I - X

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543520_0065

I. EINLEITUNG

WOHLGEMUTH, einer der Pioniere in der Enzymdiagnostik, beschrieb 1908 eine "neue Methode zur Quantitativen Bestimmung des distatischen Fermentes im Serum" (102), und diese Methode wird bis heute in der Klinik zur Pankreasdiagnostik unverändert angewandt. Er konnte zeigen, daß ein Trauma des Pankreas zu einem Anstieg der Konzentration der Amylase im Plasma führt. Damit war klar, daß in den Organgeweben in hoher Konzentration enthaltene Enzymproteine als Folge einer Zellschädigung in das Blutplasma übertreten können (4, 11, 12, 13, 14, 15, 21, 22, 33, 38, 40, 50, 76). Daher versuchte man, durch verschiedene Enzymaktivitätsmessungen im Serum einen frühzeitigen Aufschluß über eine etwaige Schädigung des betreffenden Zellsystems zu erreichen. Neben der Amylase wurde zur Pankreasenzymdiagnostik die Lipase (33, 89, 102) herangezogen. Ab 1930 verwandte man die Bestimmung der Aktivitäten der alkalischen und sauren Phosphatase zur Diagnostik von Knochen-, Leber- und Prostataerkrankungen (10, 34, 35, 37, 41, 88, 89).

Otto WARBURG (91) ermöglichte neue Erkenntnisse durch die Entwicklung der optischen Testmethoden für Enzyme im Serum und beschrieb im Jahre 1943, daß im Serum tumortragender Ratten die "Zymohexase" vermehrt vorzufinden ist, wenn die Tumoren groß genug waren (92, 93, 94). Seit dieser Veröffentlichung wurde vor allem an Krebsforschungsinstituten versucht, die Bestimmung von Enzymaktivitäten im Serum zur Frühdiagnostik der Carcinome heranzuziehen (9, 42, 43, 44, 59, 99). Wesentliche Erfolge in der Enzymdiagnostik waren BODANSKI (9) und WROBLEWSKI (103, 104, 105, 106, 107, 108, 109) am Sloan-Kettering Institut for Cancer Research in New York beschieden. Zwar nicht, wie sie angenommen hatten, im Bereich der Früherkennung von Carcinomen, sondern es stellte sich bei Vergleichsuntersuchungen bei einem breit

gestreuten Patientengut heraus, daß vor allem bei Lebererkrankungen (4, 9, 11, 12, 14, 27, 28, 29, 74, 76, 87, 101, 103, 104, 105, 106, 107, 109), beim Herzinfarkt (4, 21, 22, 31, 50, 51, 62, 81, 106, 109), bei der Muskeldystrophie (4, 5, 9, 21, 22) und bei bestimmten Erkrankungen des erythropoetischen Systems (4, 9, 21, 30, 38) die Bestimmung von Enzymaktivitäten hervorragende diagnostische Hinweise liefert. Für andere Organe konnte trotz ausgedehnter experimenteller und klinischer Untersuchungen bisher noch kein krankheitsspezifischer Enzymaktivitätsanstieg im Serum gefunden werden (4, 40, 41, 62, 69, 99).

Die Enzyme sind Eiweißkörper, die chemische Reaktionen im Organismus katalysieren. Als Stoffwechselwerkzeuge der Zellen werden sie intrazellulär synthetisiert und der funktionellen Differenzierung der Gewebe entsprechend findet man organspezifische Enzymmuster (14, 21, 22, 25, 40, 41, 44, 51, 59, 69, 73, 75, 79, 81, 100). Siehe Abb. 1 Seite 3.

Es kann heute als gesichert angesehen werden, daß Enzymproteine, die intrazellulär in hoher Konzentration vorliegen (4, 49, 69, 73, 75), nach sehr verschiedenen Zellschädigungen in den extrazellulären Raum und in das Plasma übertreten können (4, 13, 33, 41, 76, 81, 100, 108).

Da in der Zelle meist eine wesentlich höhere Konzentration an Enzymprotein besteht als im Plasma (81, 108), muß der Konzentrationsgradient unter Aufwendung von Energie durch die Zellmembran aufrecht erhalten werden (40, 57, 76, 108). Treten Enzyme aus der Zelle aus (13, 33, 41, 76, 81, 100, 108), was nicht an einen Zelluntergang gebunden ist, so muß man dies als ein Versagen der Membranfunktion der Zellen (13, 40, 49, 108) oder als eine gewisse Überfunktion gewisser Zellen betrachten (40, 49). Dieses Undichtwerden der Zellmembran ist offensichtlich eng mit dem Energiestoffwechsel der Zellen verknüpft. Sowohl die Blockade der Wasserstoffgewinnung aus Metaboliten durch Enzymgifte, wie Fluoracetat (15),

Abb. 1 Enzymmuster menschlicher Gewebe

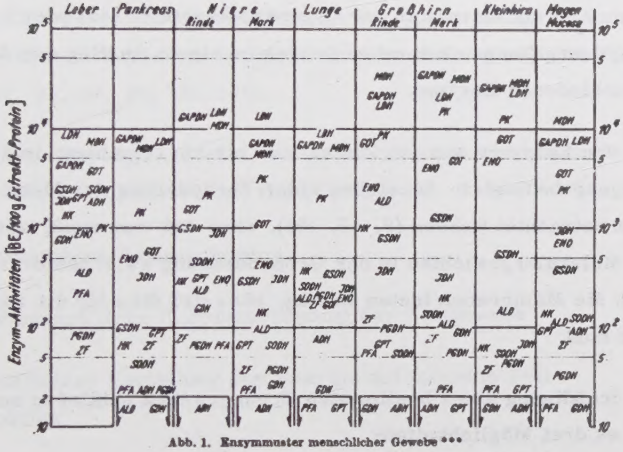


Abb. 1. Enzymmuster menschlicher Gewebe •••

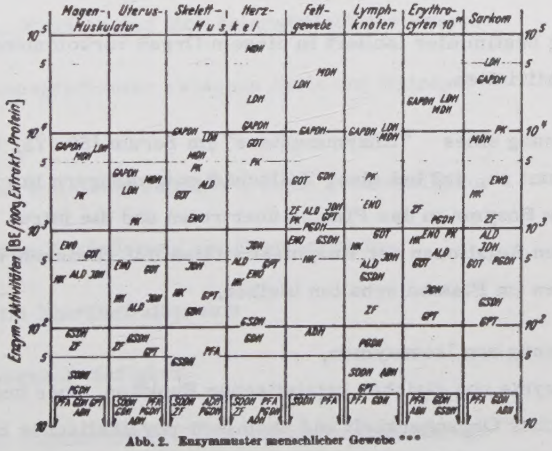


Abb. 2. Enzymmuster menschlicher Gewebe •••

durch Tetrachlorkohlenstoff (12, 14, 61) oder bei Knollenblätterschwammvergiftung (57), als auch infolge einer Störung der Sauerstoffversorgung durch Unterbindung der arteriellen Blutzufuhr, z. B. auch beim Herzinfarkt (4, 21, 22, 31, 50, 51, 62, 81, 106, 109) oder bei vermindertem 0_2-Partialdruck in der Unterdruckkammer (40) oder bei Kohlenmonoxydvergiftungen kommt es in vivo zu einem Anstieg der Aktivitäten verschiedener Enzyme.

Der Austritt von Enzymen aus den Zellen muß als ein sensibles, in der Regel schädigungsbedingtes Anzeichen einer Veränderung der Membranpermeabilität betrachtet werden (9, 40, 108), ohne daß man weiß, wie Enzyme mit Molekulargewichten in der Größenordnung zwischen etwa 10^3 und 10^6 durch die Membranen treten können, ohne daß dies für die Zelle tödlich enden muß.

Um auf eine Schädigung eines bestimmten Organgewebes schließen zu können, gibt es drei Möglichkeiten:

1. Messung bestimmter isoliert in diesem Organ vorkommender Enzymaktivitäten.

2. Bestimmung eines "Enzymmusters" im Serum (59, 75, 81). Man nimmt an, daß bei einer Zellschädigung mehrere intrazelluläre Enzyme in das Plasma übertreten und die intrazellulären Relationen der Enzymaktivitäten mit gewissen Verzerrungen im Plasma erhalten bleiben.

3. Bestimmung von Isoenzymen,
   d. h. Enzyme von gleicher katalytischer Funktion, aber unterschiedlicher Organherkunft und chemisch-physikalischer Eigenschaften. Besondere Fortschritte wurden in der Differenzierung der LDH-Isoenzyme gemacht. So läßt sich eine Leber-LDH von

einer Herzmuskel-LDH unterscheiden (60, 101, 109). Weiter wurden durch WIELAND und Mitarbeiter in systematischen Untersuchungen mittels Elektrophorese auf Stärke und Membranfolien nachgewiesen, daß Säugetierorgane maximal 5 LDH-Fraktionen enthalten, die im Elektrophoresediagramm eindeutig voneinander abzugrenzen sind (95). Diese Befunde wurden bisher mehrmals bestätigt (19, 60, 63, 64, 65, 84, 86, 96, 101, 109).

Die Höhe des Enzymspiegels im Serum unter pathologischen Bedingungen hängt von folgenden Faktoren ab (HAUG, H.):

1. Physiologische Zellmauserung
2. Gewebsspezifische Enzymausrüstung der Zellgewebe
3. Intrazelluläre Verteilung der Enzyme auf einzelne Zellorganellen
4. Löslichkeit, Struktur und Molekulargewicht der Enzyme
5. Konzentrationsgradienten zwischen Zelle und Extrazellulärraum
6. Art, Ausmaß und Geschwindigkeit einer Zellschädigung
7. Extrazelluläre Veränderung am Enzymprotein
8. Verteilung im Extrazellulärraum
9. Eliminationsgeschwindigkeit
10. Funktionelle Zuordnung der Eliminationsorgane zum geschädigten Organ und pathologische Zustände der Eliminationsorgane

11. Bindungsfestigkeit der Enzyme an die Zellstrukturen (74)

Diese Arbeit soll einen Beitrag liefern zur Frage des Ortes des endogenen Enzymabbaues. Die funktionelle Zuordnung der Eliminationsorgane zum geschädigten Gewebe könnte von entscheidender Bedeutung sein, ob es nach einer Gewebeschädigung zu einem Enzymaktivitätsanstieg im Serum kommt oder nicht. Dies wäre für das Verständnis der Brauchbarkeit und des Versagens von verschiedenen Enzymaktivitätsbestimmungen bei der Diagnose von einzelnen Gewebsschädigungen von großer Bedeutung.

II. BISHERIGE UNTERSUCHUNGEN ÜBER ORT UND GESCHWINDIGKEIT DES ABBAUES VON PLASMAENZYMPROTEINEN IM ORGANISMUS

Neben dem Zustrom von Enzymproteinen, der von den vorher genannten Faktoren abhängt, und der in der Regel für eine Erhöhung von Enzymaktivitäten im Serum verantwortlich ist, spielt zur Ausbildung eines Fließgleichgewichtes besonders die von Enzym zu Enzym und von Spezies zu Spezies unterschiedliche Inaktivierungs- und Eliminationshalbwertszeit (3, 8, 18, 20, 23, 46, 47, 52, 55, 61, 71, 72, 82, 87, 90, 97, 98) eine entscheidende Rolle. Mit der Technik der Markierung von Enzymprotein mit radioaktiven Isotopen wurden verschiedene Phasen bei der Elimination intravenös gegebener Enzymproteine beobachtet (1, 7, 8, 55, 71, 72, 82). Anfänglich stellt sich ein Gleichgewicht zwischen Plasma, extrazellulärer Flüssigkeit und Lymphe ein. Die Enzymaktivität schwindet deshalb rasch. Das Gleichgewicht hat sich beim Kaninchen nach ca. 3, beim Hund nach 6 - 8 Stunden eingestellt (3, 67). Danach wird das Enzymprotein mit langsamer Geschwindigkeit eliminiert oder inaktiviert. Die bei der Einstellung dieser Phasen gewonnenen Ergebnisse schwanken bei verschiedenen Tierarten und mit verschiedenen Techniken noch beträchtlich (3, 55, 67). Man nimmt an, daß das Enzymprotein nicht intravasal inaktiviert wird. Nach Erreichung des Gleichgewichtes soll es ohne wesentlichen Aktivitätsverlust aus der Blutbahn entfernt werden, so daß der Abfall der Aktivität der Elimination des Enzymproteins gleich käme (55). Beim Kaninchen wurde die Halbwertszeit der Aldolase in der zweiten Eliminationsphase mit ca. 3 Stunden bestimmt (3, 80). Beim Schwein wurde sie für GPT mit 51 Stunden und für GOT mit 15 Stunden bestimmt (55). Beim Menschen schätzt man die GPT-Halbwertszeit auf 63 - 88 Stunden, für die GOT auf 46 - 58 Stunden (20, 41).

Auch für Albumine (5, 8, 46, 47, 82) und die verschiedenen anderen im Plasma vorkommenden Proteine, z. B. die Antikörperfraktionen des Gammaglobulins, wurden stark unterschiedliche biologische Halbwertszeiten beobachtet (6, 18, 23, 52, 53, 54, 55, 80, 85, 87, 97, 98). Der Katabolismus des Gammaglobulins scheint von dessen Konzentration im Plasma abhängig zu sein. Bei höheren Konzentrationen nimmt seine Halbwertszeit beträchtlich ab, so daß ein "homöostatischer Mechanismus" mit spezifischen Rezeptoren zur Konstanterhaltung des Plasmaspiegels angenommen wird (18, 23, 80). Warum der Organismus den Spiegel von Enzymproteinen im Serum unter physiologischen Bedingungen in relativ engen Grenzen konstant hält, was als Grundlage der Enzymdiagnostik anzusehen ist, weiß man noch nicht. Ebenso ist unbekannt, warum einige Enzyme in relativ hoher Aktivität nachweisbar sind und andere wieder fehlen.

Über den Ort des Abbaues von Enzymprotein im Organismus, d. h. über das Organ oder das Zellsystem, welches die Enzyme aus dem Blut entnimmt, ist bisher sehr wenig bekannt und die erarbeiteten Befunde sind sehr widersprüchlich! Von den meisten Autoren wurde die Wirkung der großen parenchymatösen Organe auf den Enzymabbau untersucht.

Gegen eine wesentliche Rolle der Leber im Enzymproteinabbau aus dem Plasma spricht, daß nach totaler Hepatektomie injizierte Enzyme aus dem Blut eliminiert werden. Nach Unterbindung der Gallengänge steigt die alkalische Phosphatase im Plasma an. Ab einem gewissen Serumspiegel wird aber auch dieses Enzym eliminiert (Lit. bei 37, 67, 88).

Da normalerweise nur wenig Eiweiß im Urin nachweisbar ist scheidet die Enzymsekretion durch den Harn unter physiologischen Bedingungen praktisch aus (2, 70, 77, 78, 79). Vor und nach beidseitiger Nephrektomie wurden intravenös injizierte Enzyme und Plasmaalbumine mit nahezu

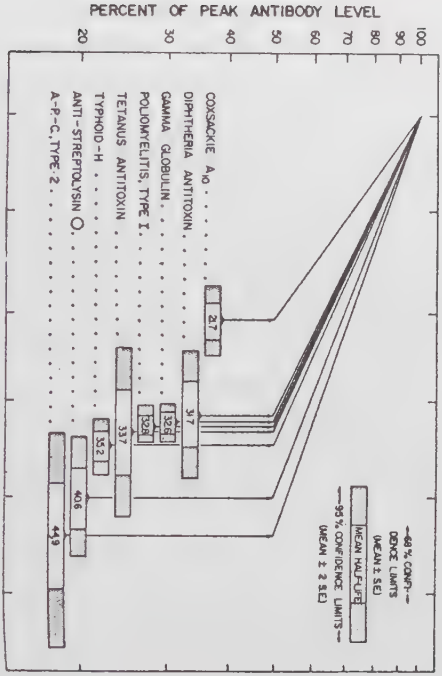


Fig. 1.—Mean rates of decline of passively acquired antibodies in 4 hypogammaglobulinemic patients.

unveränderter Geschwindigkeit abgebaut (46). Ebenso war die Herausnahme der Milz nur von geringem Einfluß auf die Geschwindigkeit des endogenen Abbaues von Enzymen (25, 39, 47). Im Magensaft lassen sich Enzymaktivitäten, z. B. LDH, nachweisen; aber den Anteil an Plasmaeiweiß, der hier verdaut wird, schätzt man zwar sehr verschieden ein, im Verhältnis zum gesamten endogen Proteinkatabolismus ist er aber wahrscheinlich gering (47). Nach Evisceration ist der Eiweißabbau verzögert, aber nicht aufgehoben (47). Die Injektion von Tusche zur Blockade der phagozytierenden Zellen des RES hatten keinen Einfluß auf die Schwundraten injizierter Transaminasen (25), denn mit dieser Technik blockiert man nur den Anteil des RES, der an der Blutbahn liegt, nicht aber z. B. das lymphatische RES. Da noch kein einzelnes Organ des Enzymabbaues gefunden wurde, muß also ein Zellsystem für die Elimination verantwortlich sein, welches im Organismus weit verbreitet ist.

III. MATERIAL UND METHODE

1. Tiermaterial und Tierhaltung

Bei unseren Versuchen arbeiteten wir mit Albinoratten vom Stamme VISTAR Nr. 47, mit Gewichten zwischen 172 g und 374 g und einem Alter zwischen 6 Wochen und 12 Wochen. Wir verwendeten Tiere sowohl weiblichen als auch männlichen Geschlechts. Die Tiere erhielten wir von einer Versuchstierfarm aus Bayern. Die Haltung erfolgte in Metallkäfigen und das Futter bestand aus Altromin G 16 und Wasser ad libidum.

2. Versuchsaufbau und Verfahren

Die Ratten wurden in einem kleinen, dafür hergerichteten, mit Glasscheiben versehenen Kasten mit Äther narkotisiert. Die gewünschte Narkosetiefe war erreicht, wenn die Ratte auf dem Rücken liegend keine Bewegungen mehr ausführte. Die Tiefe der Narkose, für ca. 3 Minuten, benützten wir:

a) um der Ratte aus dem nasalen retroorbitalen Venenplexus ca. 2 ml Blut zu entnehmen, welches sofort in den Eisschrank gestellt wurde (die Blutentnahme geschah mit einer eigens dafür lang ausgezogenen Enzympipette, von welcher, um eine gewisse Schärfe an der Spitze zu erreichen, ein kleiner Teil abgebrochen worden war),

b) um der Ratte 10 bzw. 1 ml aufbereitete frische Enzymlösung aus homogenisierter Rattenleber intravenös bzw. intraperitoneal zu spritzen,

c) um die Ratte zu wiegen und

d) um die Ratte zu markieren.

Nach den in den Tabellen ersichtlichen Zeitabständen wurden den Ratten nochmals ca. 2 ml Blut in der oben beschriebenen Art entnommen und in den Eisschrank gestellt.

In den Hauptversuchsserien wurde die Narkose nach der zweiten Blutentnahme fortgesetzt und 40 ml Ringerlösung der Ratte intraperitoneal injiziert. Die Injektionskanüle blieb verschlossen liegen. Die Ratte wurde darauf hin und her geschwenkt und leicht massiert, um eine gute Durchmischung der verbliebenen Enzymsuspension mit der Ringerlösung im Peritonealraum zu erreichen. Durch die liegende Kanüle wurde ein großer Teil, zwischen 20 und 35 ml, der Flüssigkeit aus der Bauchhöhle abgelassen, aufgefangen und ebenfalls in den Eisschrank gestellt.

Das Blut wurde bei 3000 rpm zentrifugiert und das Serum abpipettiert. Im Serum, welches im Verhältnis 1 : 3 mit 0,9 % NaCl verdünnt wurde, bestimmten wir dann die vorhandenen Enzymaktivitäten.

Somit erhalten wir drei Flüssigkeiten von jeder Ratte, in welchen die Enzymaktivitäten festgestellt wurden:

1. das Serum der ersten Blutentnahme, welches Auskunft gibt über den momentanen Fermentspiegel im Serum der Ratte vor der Enzyminjektion

2. das Serum der zweiten Blutentnahme, welches Auskunft gibt über den Anstieg der Enzymaktivitäten im Serum der Ratte zu einer bestimmten Zeit nach der Enzyminjektion

3. die Spülflüssigkeit aus der Bauchhöhle der Ratte zur Zeit der zweiten Blutentnahme d. h. zu einer bestimmten Zeit nach der Enzyminjektion.

3. Enzymaktivitätsbestimmungen

a) Die LDH - Bestimmung

Zur Bestimmung der Aktivität der Laktatdehydrogenase (LDH) wurde die Biochemica-Test-Combination Lactat-Dehydrogenase UV-Test der Firma C. F. Boehringer & Söhne GmbH, Mannheim verwendet.

Die Bestimmung der LDH-Aktivitäten erfolgte nach der optischen Methode WARBURG's. Die Messungen wurden mit einem EPPENDORF-Photometer mit vollautomatischer Registrierung bei einer Schichtdicke von 1 cm der Glas-Küvette und unter der Verwendung des Absorptionsfilters für die Wellenlänge 366 nm durchgeführt. Durch einen Thermostaten, der mit dem heizbaren Küvettenhalter verbunden war, wurde die Temperatur konstant auf 25°C gehalten.

Konzentration der Lösung:

1. 0,05 M Phosphatpuffer, pH = 7,5; 0,0003 M Pyruvat
2. 0,009 M NADH

Reaktion: Lactat + NAD $\rightleftharpoons$ Pyruvat + NADH + H^+

Zur Messung werden in eine Küvette 3 ml der Lösung 1, 0,05 ml der Lösung 2 und 0,10 ml der zu untersuchenden Flüssigkeit pipettiert, mit einem Plastikspatel kräftig durchgemischt und nun die Extinktion abgelesen, was ebenso nach zwei Minuten geschah. Um die Extinktionsveränderung genau verfolgen zu können, war der Photometer mit einem automatischen Schreiber verbunden.

Die Extinktionsdifferenz zwischen diesen beiden Werten, E_1 = Extinktionswert bei Beginn der Reaktion und E_2 = Extinktionswert nach 2 Minuten Reaktionszeit, $E = (E_2 - E_1)$ geht in die Berechnung ein.

b) Die GPT - Bestimmung

Zur Bestimmung der Aktivität der Glutamat-Pyruvat-Transaminase (GPT) wurde die Biochemica-Test-Combination Glutamat-Pyruvat-Transaminase UV-Test der Firma C. F. Boehringer & Söhne GmbH, Mannheim verwendet.

Die Bestimmung der GPT-Aktivitäten erfolgte auf die gleiche Art wie die Bestimmung der LDH-Aktivitäten.

Konzentration der Lösungen:

1. 0,1 M Phosphatpuffer pH = 7,4; 0,08 M DL-Alanin
2. 0,012 M NADH
3. 0,25 mg LDH/ml
4. 0,25 M α-Ketoglutarat

Glutamat + Pyruvat $\rightleftharpoons$ Alanin + α-Ketoglutarat

Pyruvat + NADH + H^+ $\rightleftharpoons$ Lactat + NAD

Zur Messung werden in eine Küvette 3,00 ml der Lösung 1, 0,05 ml der Lösung 2, 0,05 ml der Lösung 3 und 0,50 ml der zu untersuchenden Flüssigkeit pipettiert, gut durchgeschüttelt und 5 Minuten bei 25°C im Wasserbad stehen gelassen. Sodann werden 0,10 ml der Lösung 4 hinzugefügt, mit einem Plastikspatel gut durchgemischt und sofort, sowie nach 2 Minuten, die Extinktion abgelesen. Die Extinktionsdifferenz geht auch hier, wie bei der LDH-Aktivitätsbestimmung, in die Berechnung ein.

c) Die GAPDH - Bestimmung

Zur Bestimmung der Glycerinaldehyd-3-Phosphat-Dehydrogenase wurde die Methode nach BÜCHER et al. im zusammengesetzten optischen Test nach Gl.(48) und (5) mit 3-PG als Substrat und PGK als Indikatorenzym, wobei die Abnahme von NADH Meßgröße ist:

Reaktion:

$$3\text{-PG} + \text{ATP} \xrightleftharpoons{\text{PGK}} 1,3\text{-DPG} + \text{ADP}$$

$$1,3\text{-DPG} + \text{NADH} + \text{H}^{+} \xrightleftharpoons{\text{GAPDH}} \text{GAP} + \text{NAD} + \text{P}$$

Messung:

Nacheinander in die 10-mm-Küvette pipettieren:

2,53 ml Triäthanolamin-HCl-Puffer (pH = 7,6; 0,05 M)
0,10 ml 3-PG-Cyclohexylammoniumsalz (50 mg/ml)
0,20 ml ATP (10 mg/ml)
0,05 ml Äthylendiamintetraacetet (10 mg/ml; pH = 7,6)
0,04 ml $MgSO_4$ (0,5 M)
0,05 ml NADH (10 mg/ml)
0,01 ml PGK (1 mg/ml)

Nach BÜCHER et al. ist für Dehydrogenasen und solche Enzyme, die in gekoppelter Reaktion mit Dehydrogenasen reagieren, eine Enzym-Einheit die in 1 ml gelöste Enzymmenge, die bei 25°C und einer Schichtdicke der Küvette von 10 mm die NADH-Extinktion bei 366 mμ in 100 sec um 0,100 ändert, also 0,030 μMol NAD/ml oder 20,1 μg DPN/ml umsetzt.
Es ist folglich in 3 ml Testansatz:

$$\frac{100 \cdot 3}{\text{gestoppte Zeit (sec)}} = \text{Einheiten im Testansatz}$$

4. Berechnung der Enzymaktivitäten

Die Berechnung aller Aktivitäten aus den Extinktionsdifferenzen erfolgten nach der Formel:

$$\frac{\triangle E/\text{min} \cdot \text{Testvolumenküvette} \cdot 1000 \cdot \text{Verdünnungsfaktor}}{\text{Schichtdickeküvette} \cdot 3,3 \cdot \text{Volumen der in den Test eingesetzten Enzymlösung}} =$$

= Millieinheiten in ml Serum (mU) ^{x}, wobei

3,3 $\hat{=}$ mikromolarer Extinktionskoeffizient von NADH.

x = Nach Empfehlung der Enzymkomission der Union of Biochemistry wird die ermittelte Zahl der Enzymeinheiten pro Volumen (mU/ml) als "Enzymkonzentration" bezeichnet. Dieser Begriff entspricht der im deutschen Schrifttum üblichen Ausdruck der "Enzymaktivität" pro Volumen, der in dieser Arbeit auch verwendet wird.

IV. ERGEBNISSE

a) Vorversuche

Aus unseren Überlegungen folgerten wir, daß der Ort des Plasmaproteinabbaues wenigstens zu einem grossen Teil an das lymphatische System gekoppelt sein könnte. Um dies nachzuprüfen, glauben wir eine brauchbare Methode gefunden zu haben. Wir spritzten den Ratten eine bestimmte Menge von Enzymaktivitäten in die freie Bauchhöhle und erwarteten, daß diese von dort abtransportiert wird. Da dieser Abtransport von Flüssigkeiten zum größten Teil über das Bauchfell erfolgt (Lit. bei 68), und im Bauchfell selbst und auf dem Transportweg, der von den Lymphbahnen dargestellt wird, sich sehr viele Lymphknoten als Filterstation befinden, hofften wir nachweisen zu können, daß nur ein geringer Teil der injizierten Enzymaktivitätsmengen im Blute der Ratte nachzuweisen sein würde.

In den Vorversuchen untersuchten wir die Abhängigkeit des Gewichtes der Ratte, die Menge der Enzymaktivitäten und die Menge der Flüssigkeit, in welcher die Enzymaktivitäten der Ratte einzuspritzen waren. Die ersten Versuche (Tab. 1 u. 2) wurden nur mit der Messung eines Fermentes durchgeführt, der Lactat-Dehydrogenase.

Die Versuche der Tabelle I zeigen, daß der Enzymspiegel einer Ratte auch über längere Zeit recht konstant bleibt. Bei den ersten drei Versuchen liegen die Messungen zeitlich weit auseinander. Die leichten Veränderungen der LDH-Aktivitäten zu den verschiedenen Zeiten bei einer Ratte könnte man durch die Alterationen bei den häufigen Eingriffen erklären. Da wir unsere Versuche der Abbaugeschwindigkeit anpassen mußten, hatten wir möglichst viele Messungen über einen geringen Zeitraum zu verteilen. Da aber 6 Blutentnahmen = 12 ml Blut

nicht alle Tiere lebend überstanden,und auch der Verdacht nahe lag, daß durch die häufigen Blutentnahmen eine gewisse Schwächung des Tieres bestand, wählten wir für jeden Versuchswert zwei Ratten.

Tabelle I

LDH-Aktivitäten bei verschiedenen Ratten

Gewicht der Ratte (g)	Versuchs-beginn	Nach x (min) Versuchsdauer 15	60	90	120	900	1440 (min)
243	456	-	546	-	474	615	429
298	615	-	474	-	660	546	v
336	717	-	578	-	819	812	669
274	639	816	478	243	x	-	-
296	158	429	816	x	x	-	-
318	243	774	600	258	230	-	-

LDH-Aktivitäten bei verschiedenen Ratten berechnet auf den Extrazellulärraum in (mU/ml).

v ≙ Blutentnahme war nicht mehr möglich, da die Einstichstellen vernarbt waren

x ≙ Ratte war zur Zeit der nächsten Blutentnahme verendet

- ≙ keine Blutentnahme bei dieser Ratte

Bei den Versuchen 31 - 50 (Tab. 3a u. 3b) als weitere Versuchsserien wurden die Messungen ausgedehnt auf die Fermente LDH = Lactat-Dehydrogenase, GPT = Glutamat-Pyruvat-Transaminase und die, normalerweise nicht im Serum vorkommende, GAPDH = Glycerin-Aldehyd-3-Phosphat-Dehydrogenase.

Da die GAPDH nicht nachweisbar war, wurde sie bei den Vorversuchen nicht in einer eigenen Tabelle geführt.

Um die einzelnen Werte von Ratten der Versuchsserie 1 verschiedenen Gewichts, mit verschieden hohen Enzymspiegeln bei Versuchsbeginn und verschieden hoch gespritzten Enzymaktivitäten vergleichen zu können, wurden die Werte der Schwundraten auch in % der gespritzten Enzymaktivitäten angegeben (Tab. 2, 3a u. 3b). Die Verabreichung erfolgte in 10 ml Eluat. Sie erstreckt sich über einen Zeitraum von 15 Minuten bis 24 Stunden. Es wurden Enzymaktivitäten zwischen ca. 40 000 mU/10 ml und ca. 240 000 mU/10 ml LDH ip. gespritzt (Tab. 2). Nun wurde die Spritzflüssigkeit verringert auf 2 bzw. 1 ml (Tab. 3a u. 3b). Bezogen auf einen ml Spritzflüssigkeit schwankten hier die gespritzten Enzymaktivitäten zwischen ca. 25 000 und 550 000 mU/ml LDH (Tab. 3a) bzw. 5 500 und 45 000 mU/ml GPT (Tab. 3b). Auch hier wurden die Schwundraten prozentual angegeben.
Die Resorption der Enzymaktivitäten scheint um so rascher zu gehen, je weniger Lösungsmittel verwandt wird.

Tabelle 2: Versuche mit Aktivitätsbestimmungen der Lactat-Dehydrogenase bei 10 ml Spritzflüssigkeit (intraperitoneal)

Versuchsnummer	Versuchsdauer (min)	Enzymaktivitäten (mU) pro Menge der verwendeten Spritzflüssigkeit (ml)	Gewicht der Ratte (g)	Gewichtsfaktor (EZ) gleich 15 % des Gewichtes der Ratten	Enzymaktivität in ml, Serum der Ratte vor Versuchsbeginn	Enzymaktivität im ml, Serum der Ratte nach Versuchsdauer	Differenz der beiden Enzymaktivitätswerte aus dem Serum der Ratte
1	15	57000/10	262	39.3	669	669	0
2	30	57000/10	246	36.9	669	669	0
3	60	57000/10	258	38.7	669	724	55
4	60	76400/10	288	43.2	621	602	0
5	60	76400/10	280	42.0	334	334	0
6	120	57000/10	274	41.1	573	573	0
7	180	57000/10	296	44.4	639	639	0
8	240	126000/10	302	45.3	110	2722	2612
9	240	126000/10	312	46.8	150	2054	1904
10	240	239000/10	286	42.9	432	1110	678
11	270	239000/10	329	49.3	1252	1796	545
12	300	126000/10	294	44.1	394	1289	995
13	300	239000/10	282	42.3	889	1844	955
14	330	239000/10	317	47.55	1633	1367	0
15	360	239000/10	306	40.65	1586	1836	250
16	360	126000/10	311	46.6	812	2627	1815
17	360	126000/10	324	48.6	819	2388	1570
18	420	40310/10	260	39.0	578	344	0
19	420	126000/10	313	46.9	717	1193	476
20	420	126000/10	322	48.3	764	1193	429
21	480	126000/10	318	47.7	974	1289	315
22	480	126000/10	306	45.9	965	1290	335
23	540	42310/10	271	40.7	456	860	404
24	540	126000/10	316	47.4	1414	1760	346
25	540	126000/10	330	49.5	1432	1760	328
26	840	263000/10	280	42.0	717	432	0
27	900	263000/10	296	44.4	478	478	0
28	960	263000/10	284	42.6	334	3194	2860
29	1440	76400/10	280	42.0	334	124	0
30	1440	76400/10	288	43.2	621	955	334

Enzymaktivität (gesamt) im Extrazellulärraum (Aktivitätendifferenz mal Gewichtsfaktor)	Enzymaktivität im Extrazellulärraum in % der gespritzten Enzymmenge	Enzymaktivitäten in der Rückspülflüßigkeit aus der Bauchhöhle der Ratte	nicht mehr in freie Bauchhöhle auffindbare gespritzte Enzymmenge	Schwundrate der Enzyme	Schwundrate in % der gespritzten Enzymmenge
0	0	40000	17000	17000	29. 9
0	0	40000	17000	17000	29. 9
2129	37	40000	17000	17000	29. 9
0	0	x	x	x	x
0	0	x	x	x	x
0	0	34400	22600	22600	39. 8
0	0	38200	18800	18800	33. 0
118324	94,2	80220	45780	neg.	neg.
89107	70,7	80220	45780	neg.	neg.
29086	12,2	200200	38800	9714	4. 1
26869	11,3	180600	58400	31531	13. 2
43880	34,8	66850	59150	15270	12. 1
40397	16,9	167300	71700	31303	13. 1
0	0	166600	72400	72400	31. 2
10163	4,3	163700	75300	65127	27. 3
84579	67,1	66850	59150	neg.	neg.
76302	60,5	67120	58880	neg.	neg.
0	0	22050	18260	18260	45. 4
22324	17,7	40110	85890	63566	50. 4
20721	16,4	40110	85890	65169	51. 7
15026	11,9	36820	89180	74154	58. 8
15377	12,2	36820	89180	73803	58. 6
16443	40,8	30240	10070	neg.	neg.
16400	13,0	16700	109300	92900	73. 7
16236	12,9	16700	109300	93064	73. 8
0	0	3346	259654	259654	98. 7
0	0	1195	261805	261805	99. 3
121836	46,7	955	262045	140209	53. 4
0	0	2688	73712	73712	96. 5
14429	18,9	2688	73712	59283	78. 8

Tabelle 3a: Versuche mit Aktivitätsbestimmungen der Lactat-Dehydrogenase bei 1 bzw. 2 ml Spritzflüssigkeit (intraperitoneal)

Versuchsnummer	Versuchsdauer (min)	Menge der Enzymaktivitäten in der Menge Spritzflüssigkeit (ml)	Gewicht der Ratte (g)	Gewichtsfaktor (EZ) gleich 15 % des Gewichtes der Ratten	Enzymaktivität in ml, Serum der Ratte vor Versuchsbeginn	Enzymaktivität im ml, Serum der Ratte nach Versuchsdauer	Differenz der beiden Enzymaktivitätswerte aus dem Serum der Ratte
31	3	573000/1	324	48.6	602	602	0
32	10	573000/1	354	53.1	258	258	0
33	30	573000/1	342	51.3	430	300	0
34	30	573000/1	336	50.4	372	315	0
35	60	210000/1	330	49.5	459	816	357
36	60	210000/1	342	51.3	915	1002	87
37	60	210000/1	309	46.35	1152	2151	999
38	60	210000/1	314	47.1	1152	1863	711
39	60	210000/1	306	45.9	2007	2436	429
40	60	57200/2	295	44.25	429	258	0
41	60	57200/2	258	38.7	288	516	228
42	120	181500/1	314	47.1	201	1059	858
43	180	181500/1	356	53.4	230	1152	922
44	180	181500/1	374	56.1	487	1116	629
45	180	181500/1	315	47.2	774	1116	342
46	180	181500/1	342	51.3	372	1493	1121
47	240	191000/1	289	43.35	600	758	158
48	240	191000/1	302	45.3	2207	2151	0
49	240	57200/2	327	49.0	816	x	x
50	240	57200/2	315	47.2	1002	x	x

Enzymaktivität (gesamt) im Extrazellulärraum (Aktivitätendifferenz mal Gewichtsfaktor)	Enzymaktivität im Extrazellulärraum in % der gespritzten Enzymmenge	Enzymaktivitäten in der Rückspülflüssigkeit aus der Bauchhöhle der Ratte	nicht mehr in freie Bauchhöhle auffindbare gespritzte Enzymmenge	Schwundrate der Enzyme	Schwundrate in % der gespritzten Enzymmenge
0	0	572800	200	200	0,4
0	0	458000	115000	115000	20,1
0	0	420000	153000	153000	26,8
0	0	273120	299880	299880	52,3
17672	8,4	30960	179040	161368	76,9
4463	2,1	25400	184600	180137	84,9
46304	22,0	18240	191760	145456	69,4
33488	15,9	19520	190480	156992	74,8
19691	9,4	20840	189160	169469	80,8
0	0	42000	15200	15200	26,6
8824	15,4	30560	26640	17816	31,2
40412	22,3	31460	150040	109628	60,6
49235	27,1	23880	147620	98385	54,2
35286	19,5	19100	162400	127114	70,1
16142	8,9	19100	162400	146258	80,8
57507	31,7	23880	157520	100113	55,3
6849	3,6	68800	122000	115151	60,4
0	0	49640	142000	142000	74,4
x	x	5720	51480	x	x
x	x	9150	48050	x	x

Tabelle 3b: 20 Versuche mit Aktivitätsbestimmungen der Glutamat-Pyruvat-Transaminase bei 1 bzw. 2 ml Spritzflüssigkeit (intraperitoneal)
Gewichte der Ratten und Gewichtsfaktor wie in Tab. 3 a

Versuchsnummer	Versuchsdauer (min)	Enzymaktivitäten (mU) pro Menge der verwendeten Spritzflüssigkeit (ml)	Enzymaktivität im ml, Serum der Ratte vor Versuchsbeginn	Enzymaktivität im ml, Serum der Ratte nach Versuchsdauer	Differenz der beiden Enzymaktivitätswerte aus dem Serum der Ratte	Enzymaktivität (gesamt) im Extrazellulärraum (Aktivitätendifferenz mal Gewicht
31	3	45000/1	33.6	33.6	0	0
32	10	45000/1	24.2	24.2	0	0
33	30	45000/1	27.0	23.5	0	0
34	30	45000/1	27.0	33.6	6.6	333
35	60	13400/1	33.6	30.3	0	0
36	60	13400/1	27.0	27.0	0	0
37	60	13400/1	40.5	36.9	0	0
38	60	13400/1	27.0	40.5	13.5	636
39	60	13400/1	47.1	73.5	26.4	1212
40	60	11200/2	20.1	27.0	6.9	305
41	60	11200/2	27.0	27.0	0	0
42	120	6060/1	27.0	50.7	23.7	1116
43	180	6060/1	20.1	94.5	74.7	3973
44	180	6060/1	13.5	84.0	70.5	3955
45	180	6060/1	16.8	60.6	43.8	2067
46	180	6060/1	16.8	67.5	50.7	2600
47	240	5850/1	20.0	40.5	20.5	889
48	240	5850/1	20.0	60.6	40.6	1839
49	240	11200/2	21.7	x	x	x
50	240	11200/2	18.6	x	x	x

Enzymaktivität im Extrazellulärraum in % der gespritzten Enzymmenge	Enzymaktivitäten in der Rückspülflüssigkeit aus der Bauchhöhle der Ratte	nicht mehr in freie Bauchhöhle auffindbare gespritzte Enzymmenge	Schwundrate der Enzyme	Schwundrate in % der gespritzten Enzymmenge
0	34400	10600	10600	28.4
0	28000	17000	17000	37.8
0	26800	18200	18200	40.3
0,7	8800	36200	35867	79.8
0	944	12456	12456	93.1
0	720	12680	12680	94.7
0	808	12592	12592	94.2
4,8	764	12636	12000	89.7
9,1	808	12592	11380	85.1
2,7	2680	8520	8215	73.3
0	1800	9400	9400	83.9
18,4	1010	5050	3934	64.9
65,5	450	5610	1637	27.0
65,2	670	5390	1435	23.7
34,2	560	5500	3433	56.6
42,8	900	5160	2560	42.2
15,2	1340	4510	3621	61.9
31,4	900	4950	3111	53.2
x	570	10630	x	x
x	270	10930	x	x

b) 4 Hauptversuchsserien

Aus den Vorversuchen war zu folgern:
Um eine möglichst gute Reproduzierbarkeit der Untersuchungsergebnisse bei den einzelnen Ratten zu erreichen, mußte man das Gewicht d. h. das Alter der Ratten, welche in einer Versuchsserie laufen, möglichst konstant halten.

Es fand sich bei den Enzymaktivitätswerten im Serum der Ratten vor Versuchsbeginn, daß bei Tieren über 300 g und ca. 9 - 10 Wochen Alter gegenüber denen von 150 - 300 g die Enzymaktivitäten weit mehr streuen. (Abb. 3, 4 u. Abb. 5, 6). Deshalb nahmen wir für die vier vergleichenden Versuchsserien Ratten von einem annähernd gleichen Gewicht zwischen 150 und 300 g.

1. Bei der ersten Versuchsserie injizierten wir bei 14 Ratten zu den in den Tabellen angegebenen Zeitpunkten ca. 200 000 IE intravenös durch die Schwanzvenen (Tab. 4 u. 5)

2. Bei der zweiten Versuchsserie injizierten wir wiederum bei 14 Ratten ca. 200 000 IE Enzymlösung intraperitoneal (Tab. 6 u. 7). Bei beiden Versuchsserien wurden die Aktivitäten der LDH und der GPT, sowie der GAPDH gemessen. Da aber die GAPDH im Serum in keinem Fall festgestellt werden konnte, wurde sie in den Tab. 3, 5 u. 7 nicht aufgeführt.

3. Bei der dritten Versuchsserie wurde wie bei der zweiten intraperitoneal gespritzt, die Ratten waren aber vorher mit 2 mg Imuran vorbehandelt (Tab. 8 u. 9 u. 10). Es wurden jeweils 1 mg 10 Stunden und 1 mg 1 Stunde vor Versuchsbeginn ip. gespritzt.

4. Die vierte Versuchsserie ist die gleiche wie die dritte, nur daß die Ratte mit 4 mg Urbason vorbehandelt war. (Tab. 11, 12 u. 13). Es wurden jeweils 2 mg 10 Stunden und 2 mg 1 Stunde vor Versuchsbeginn gespritzt. Die Tabellen 10 und 13 enthalten die Werte der GAPDH aus den Versuchsreihen 3 und 4. Die 4 Versuchsserien wurden in den Abb. 7 bis 10 graphisch ausgewertet: 1. Zeichneten wir das Verhalten der Enzymaktivitäten im Extrazellulärraum auf, d. h. den Anstieg und den darauffolgenden Abfall der Enzymaktivitäten im Extrazellulärraum nach bestimmten Zeiten bei der LDH (Abb. 7) und der GPT (Abb. 8). 2. Zeichneten wir das Verhalten der Schwundraten in % der gespritzten Enzymmenge (Tab. 14) in den gleichen zeitlichen Abständen wie in Abb. 7 und 8 für die LDH (Abb. 10), für die GPT (Abb. 11) und für die GAPDH (Abb. 12).

Tabelle 4: Versuchsserie 1 (Messungen der LDH)
Enzymaktivitäten intravenös gespritzt

Versuchsnummer	Versuchsdauer (min)	Enzymaktivitäten (mU) pro Menge der verwendeten Spritzflüssigkeit (ml)	Gewicht der Ratte (g)	Gewichtsfaktor (EZ) gleich 15 % des Gewichtes der Ratten	Enzymaktivität im ml, Serum der Ratte vor Versuchsbeginn	Enzymaktivität im ml, Serum der Ratte nach Versuchsbeginn	Differenz der beiden Enzymaktivitätswerte aus dem Serum der Ratte
51	15	238500/1	270	40.5	429	1605	1176
52	17	238500/1	265	39.75	429	1935	1506
53	30	238500/1	295	44.25	516	x	x
54	33	238500/1	285	42.75	717	1719	1002
55	60	238500/1	243	36.45	846	2079	1233
56	60	238500/1	262	39.3	387	2433	2049
57	120	238500/1	259	38.9	483	1127	644
58	120	238500/1	258	38.7	396	1485	1089
59	180	238500/1	268	40.2	615	578	0
60	180	238500/1	298	44.7	615	702	87
61	240	238500/1	238	35.7	546	315	0
62	240	238500/1	298	44.7	660	417	0
63	300	238500/1	252	37.8	474	x	0
64	300	238500/1	276	41.4	243	186	0

Enzymaktivität (gesamt) im Extrazellulärraum (Aktivitätendifferenz mal Gewichtsfaktor)	Enzymaktivität im Extrazellulärraum in % der gespritzten Enzymmenge	Schwundrate der Enzyme	Schwundrate in % der gespritzten Enzymmenge
47628	20,1	190872	79,9
59865	24,7	178635	75,3
x	x	x	x
42837	17,8	195663	82,2
44943	18,7	193557	81,3
80523	33,7	157977	66,3
25052	10,6	213448	89,4
42144	7,6	196350	82,4
0	0	238500	100,0
3888	1,4	234612	98,6
0	0	238500	100,0
0	0	238500	100,0
x	x	x	x
0	0	238500	100,0

Tabelle 5: Versuchsserie 1 (Messungen der GPT)
Enzymaktivitäten intravenös gespritzt
Gewichte der Ratten und Gewichtsfaktor wie in Tab. 4

Versuchsnummer	Versuchsdauer (min)	Enzymaktivitäten (mU) pro Menge der verwendeten Spritzflüßigkeit (ml)	Enzymaktivität im ml, Serum der Ratte vor Versuchsbeginn	Enzymaktivität im ml, Serum der Ratte nach Versuchsbeginn	Differenz der beiden Enzymaktivitätswerte aus dem Serum der Ratte	Enzymaktivität (gesamt) im Extrazellulärraum (Aktivitätendifferenz mal Gewichtsfaktor)	Enzymaktivitäten im Extrazellulärraum in % der gespritzten Enzymmenge	Schwundrate der Enzyme	Schwundrate in % der gespritzten Enzymmenge
51	15	14320/1	33,6	135,0	101,4	4107	28,5	10213	71,5
52	17	14320/1	16,8	147,0	130,2	5185	36,3	9135	63,7
53	30	14320/1	17,1	x	x	x	x	x	x
54	33	14320/1	23,4	147,0	123,6	3654	25,5	10666	74,5
55	60	14320/1	16,8	154,5	137,7	5019	35,1	9301	64,9
56	60	14320/1	20,1	168,0	147,9	5814	40,7	8506	59,3
57	120	14320/1	27,0	128,3	101,3	3941	27,6	10379	72,4
58	120	14320/1	23,4	145,1	121,7	4710	32,9	9619	67,1
59	180	14320/1	23,4	111,0	87,6	3522	24,6	10798	75,4
60	180	14320/1	20,1	90,6	70,5	3153	22,1	11167	77,9
61	240	14320/1	16,8	108,0	91,2	3255	24,6	10798	75,4
62	240	14320/1	13,5	117,3	43,8	1959	13,6	12361	86,4
63	300	14320/1	27,0	x	x	x	x	x	x
64	300	14320/1	13,5	117,0	73,5	3042	21,2	11278	78,8

Das Enzym GAPDH war bei der Versuchsserie 1 im Serum nicht meßbar.

Tabelle 6: Versuchsserie 2 (Messung der LDH)

Versuchsnummer	Versuchsdauer (min)	Enzymaktivitäten (mU) pro Menge der verwendeten Spritzflüssigkeit (ml)	Gewicht der Ratte (g)	Gewichtsfaktor (EZ) gleich 15 % des Gewichtes der Ratten	Enzymaktivität im ml, Serum der Ratte vor Versuchsbeginn	Enzymaktivität im ml, Serum der Ratte nach Versuchsbeginn	Differenz der beiden Enzymaktivitätswerte aus dem Serum der Ratte
65	10	191000/1	280	42.0	387	444	57
66	10	191000/1	268	40.2	615	627	12
67	30	191000/1	258	38.7	429	516	87
68	30	191000/1	246	36.9	669	702	33
69	60	191000/1	172	25.8	944	1118	174
70	60	191000/1	190	28.5	258	1361	1103
71	120	191000/1	173	25.9	186	874	688
72	120	191000/1	182	27.3	143	573	430
73	180	191000/1	184	27.6	344	788	444
74	180	191000/1	194	29.1	158	616	458
75	240	191000/1	194	29.1	143	173	30
76	240	191000/1	195	29.3	430	759	329
77	300	191000/1	180	27.0	430	659	229
78	300	191000/1	198	29.7	516	545	39

Enzymaktivität (gesamt) im Extrazellulärraum (Aktivitätendifferenz mal Gewichtsfaktor)	Enzymaktivität im Extrazellulärraum in % der gespritzten Enzymmenge	Enzymaktivitäten in der Rückspülflüßigkeit aus der Bauchhöhle der Ratte	nicht mehr in freie Bauchhöhle auffindbare gespritzte Enzymmenge	Schwundrate der Enzyme	Schwundrate in % der gespritzten Enzymmenge
2396	1,3	187500	3500	1104	0,7
504	0,3	168300	22700	22196	12,0
3367	1,7	12400	178600	175233	92,0
1218	0,6	32288	158712	157494	83,0
4482	2,3	11440	179560	175078	92,0
31438	16,5	11080	179920	148482	77,0
17809	9,4	3820	187180	169371	89,0
11728	6,1	1912	189088	177360	93,0
12271	6,4	1912	189088	176817	93,0
13331	7,0	2104	188896	175565	92,0
847	0,4	1536	189464	188617	99,0
9660	5,1	1912	189088	179428	94,0
6188	3,2	1912	189088	182900	96,0
1144	0,6	380	190620	189476	99,0

Tabelle 7: Versuchsserie 2

Gewichte der Ratten und Gewichtsfaktor wie in Tab. 6.

Das Enzym GAPDH war im Serum nicht meßbar.

Versuchsnummer	Versuchsdauer (min)	Enzymaktivitäten (mU) pro Menge der verwendeten Spritzflüßigkeit (ml)	Enzymaktivität im ml, Serum der Ratte vor Versuchsbeginn	Enzymaktivität im ml, Serum der Ratte nach Versuchsdauer	Differenz der beiden Enzymaktivitätswerte aus dem Serum der Ratte	Enzymaktivität (gesamt) im Extrazellulärraum (Aktivitätendifferenz mal Gewicht
65	10	7000/1	13.5	40.5	27.0	1134
66	10	7000/1	16.8	21.1	4.3	173
67	30	7000/1	9.9	31.9	22.0	851
68	30	7000/1	16.8	49.2	32.4	1196
69	60	7000/1	23.4	50.4	27.0	697
70	60	7000/1	16.8	36.9	20.1	573
71	120	7000/1	13.5	60.6	47.1	1220
72	120	7000/1	13.5	60.6	47.1	1286
73	180	7000/1	20.1	70.5	50.4	1391
74	180	7000/1	9.9	54.0	44.1	1283
75	240	7000/1	16.8	63.9	47.1	1371
76	240	7000/1	13.5	6.6	0	0
77	300	7000/1	13.5	50.4	36.9	996
78	300	7000/1	6.6	16.8	10.2	303

Enzymaktivität im Extrazellulärraum in % der gespritzten Enzymmenge	Enzymaktivitäten in der Rückspülflüßigkeit aus der Bauchhöhle der Ratte	nicht mehr in freie Bauchhöhle auffindbare gespritzte Enzymmenge	Schwundrate der Enzyme	Schwundrate in % der gespritzten Enzymmenge
16,2	2520	4480	3346	48,8
2,5	4020	2980	2807	41,0
12,1	1935	5065	4214	60,1
17,1	738	6262	5066	72,4
9,7	584	6416	5719	81,8
8,2	584	6416	5843	83,5
17,4	268	6732	5512	78,8
18,4	180	6820	5534	79,1
19,9	132	6868	5477	78,4
18,3	224	6776	5493	78,6
19,6	88	6912	5541	79,2
0	88	6912	6912	98,9
14,2	88	6912	5916	84,6
4,4	44	6956	6653	95,3

Tabelle 8: 3 Enzymaktivitäten intraperitoneal gespritzt, Ratten vorbehandelt mit 2 mg Imuran^{R} (Messungen der LDH).

Versuchsnummer	Versuchsdauer (min)	Enzymaktivitäten (mU) pro Menge der verwendeten Spritzflüssigkeit (ml)	Gewicht der Ratte (g)	Gewichtsfaktor (EZ) gleich 15 % des Gewichtes der Ratten	Enzymaktivität im ml, Serum der Ratte vor Versuchsbeginn	Enzymaktivität im ml, Serum der Ratte nach Versuchsbeginn	Differenz der beiden Enzymaktivitätswerte aus dem Serum der Ratte
79	60	226300/1	204	30.6	530	1434	904
80	60	226300/1	230	34.5	573	1353	780
81	120	226300/1	198	29.7	315	1577	1262
82	120	226300/1	188	28.2	229	1663	1434
83	180	226300/1	200	30.0	158	1189	1032
84	180	226300/1	184	27.6	519	x	x
85	240	226300/1	190	28.5	630	874	244
86	240	226300/1	216	32.4	630	945	315
87	300	226300/1	192	28.8	416	860	444
88	300	226300/1	194	29.1	287	673	386

Tabelle 9: Enzymaktivitäten intraperitoneal gespritzt, Ratten vorbehandelt mit 2 mg Imuran^{R} (Messung der GPT).

79	60	11200/1	204	30.6	13.5	36.9	23.4
80	60	11200/1	230	34.5	16.8	13.5	0
81	120	11200/1	198	29.7	20.1	67.5	47.4
82	120	11200/1	188	28.2	16.8	63.9	47.1
83	180	11200/1	200	30.0	6.6	100.5	93.9
84	180	11200/1	184	27.6	9.9	x	x
85	240	11200/1	190	28.5	33.6	114.0	80.4
86	240	11200/1	216	32.4	23.4	87.0	63.6
87	300	11200/1	192	28.8	13.5	108.0	94.5
88	300	11200/1	194	29.1	9.9	135.0	125.1

Enzymaktivität (gesamt) im Extrazellulärraum (Aktivitätendifferenz mal Gewichtsfaktor)	Enzymaktivität im Extrazellulärraum in % der gespritzten Enzymmenge	Enzymaktivitäten in der Rückspülflüssigkeit aus der Bauchhöhle der Ratte	nicht mehr in freie Bauchhöhle auffindbare gespritzte Enzymmenge	Schwundrate der Enzyme	Schwundrate in % der gespritzten Enzymmenge
27650	12,4	55472	170828	143178	63,0
26900	11,9	1536	224764	197864	87,5
37493	16,5	48516	177784	140291	62,1
40439	17,8	59232	167068	126629	55,9
30948	13,7	32288	194012	163064	72,1
x	x	35560	190740	x	x
6943	0,3	29816	196481	189538	83,8
10206	4,5	39200	188100	177894	78,7
12779	5,6	28096	198204	185425	82,0
11253	4,9	12604	213696	202443	,7
716	6,4	4928	6272	5556	49,7
0	0	88	11112	11112	99,4
1408	12,6	1620	9580	8172	73,0
1328	11,9	4748	6452	5124	45,8
2817	25,2	1340	9860	7043	62,8
x	x	1138	10062	x	x
2291	20,4	1080	10120	7829	69,8
2061	18,4	1388	9812	7751	69,2
2722	24,3	1120	10080	7358	65,7
3640	32,5	540	10660	7020	62,7

Tabelle 10: Versuchsserie 2 Enzymaktivitäten intraperitoneal gespritzt, Ratten vorbehandelt mit 2 mg Imuran^{R} (Messungen der GAPDH)

Versuchsnummer	Versuchsdauer (min)	Enzymaktivitäten (mU) pro Menge der verwendeten Spritzflüssigkeit (ml)	Gewicht der Ratte (g)	Gewichtsfaktor (EZ) gleich 15 % des Gewichtes der Ratten	Enzymaktivität im ml, Serum der Ratte vor Versuchsbeginn	Enzymaktivität im ml, Serum der Ratte nach Versuchsbeginn	Differenz der beiden Enzymaktivitätswerte aus dem Serum der Ratte
79	60	75200/1	204	30.6	0	511	511
80	60	75200/1	230	34.5	0	204	204
81	120	75200/1	198	29.7	0	204	204
82	120	75200/1	188	28.2	0	511	511
83	180	75200/1	200	30.0	0	511	511
84	180	75200/1	184	27.6	0	x	x
85	240	75200/1	190	28.5	0	204	204
86	240	75200/1	216	32.4	0	204	204
87	300	75200/1	192	28.8	0	204	204
88	300	75200/1	194	29.1	0	615	615

Tabelle 11: Versuchsserie D 4 Enzymaktivitäten intraperitoneal gespritzt, Ratten vorbehandelt mit 4 mg Urbason^{R} (Messungen der LDH)

89	60	210000/1	180	27.0	165	2667	2502
90	60	210000/1	198	29.7	645	1410	765
91	120	210000/1	176	26.4	372	1434	1062
92	120	210000/1	189	28.4	672	1464	792
93	180	210000/1	180	27.0	258	1089	831
94	180	210000/1	173	25.9	436	x	x
95	240	210000/1	196	29.4	672	1002	330
96	240	210000/1	188	28.2	348	x	x
97	300	210000/1	187	28.1	573	459	0
98	300	210000/1	197	29.6	861	858	0

Enzymaktivität (gesamt) im Extrazellulärraum (Aktivitätendifferenz mal Gewichtsfaktor)	Enzymaktivität im Extrazellulärraum in % der gespritzten Enzymmenge	Enzymaktivitäten in der Rückspülflüssigkeit aus der Bauchhöhle der Ratte	nicht mehr in freie Bauchhöhle auffindbare gespritzte Enzymmenge	Schwundrate der Enzyme	Schwundrate in % der gespritzten Enzymmenge
19937	26,8	2720	72480	56648	75,6
7038	9,4	2720	72480	65442	87,0
6059	8,1	2720	72480	66421	88,3
14410	19,2	2720	72480	58070	77,2
15330	20,2	1360	73840	58510	77,8
x	x	1360	73840	x	x
5814	7,7	1360	73840	68026	90,6
6610	8,8	2720	72480	65870	87,6
5876	7,8	2720	72480	66606	88,6
17397	23,8	2720	72480	54523	72,6

37554	32,1	17680	132040	54486	80,1
22727	10,8	58640	191080	128439	81,2
28087	13,4	48120	181080	133043	88,8
22499	10,7	42920	166680	143887	88,8
22487	10,7	35560	174440	152003	72,5
x	x	19120	190880	x	x
9702	4,6	19520	190480	180778	86,1
x	x	21040	189960	x	x
0	0	12480	197520	197520	94,2
0	0	22920	187080	187080	86,2

Tabelle 12: Versuchsserie 4 Enzymaktivitäten intraperitoneal gespritzt, Ratten vorbehandelt mit 4 mg Urbason^{R} (Messungen der GPT)

Versuchsnummer	Versuchsdauer (min)	Enzymaktivitäten (mU) pro Menge der verwendeten Spritzflüssigkeit (ml)	Enzymaktivität im ml, Serum der Ratte vor Versuchsbeginn	Enzymaktivität im ml, Serum der Ratte nach Versuchsbeginn	Differenz der beiden Enzymaktivitätswerte aus dem Serum der Ratte	Enzymaktivität (gesamt im Extrazellulärraum (Aktivitätendifferenz mal Gewichtsfaktor
89	60	11200/1	9.9	57.3	47.4	1280
90	60	11200/1	6.6	47.1	40.5	1203
91	120	11200/1	16.8	57.3	37.5	990
92	120	11200/1	27.0	81.0	54.0	1534
93	180	11200/1	20.1	182.1	162.0	4374
94	180	11200/1	13.5	x	x	x
95	240	11200/1	9.9	108.0	98.1	2884
96	240	11200/1	16.8	x	x	x
97	300	11200/1	23.4	97.8	74.4	2091
98	300	11200/1	6.6	60.6	54.0	1798

Tabelle 13: Versuchsserie 4 Enzymaktivitäten intraperitoneal gespritzt, Ratten vorbehandelt mit 4 mg Urbason^{R} (Messungen der GAPDH)

89	60	95800/1	0	137	137	3699
90	60	95800/1	0	171	171	5079
91	120	95800/1	0	274	274	7234
92	120	95800/1	0	205	205	5822
93	180	95800/1	0	171	171	4617
94	180	95800/1	0	x	x	x
95	240	95800/1	0	240	240	7056
96	240	95800/1	0	x	x	x
97	300	95800/1	0	137	137	3850
98	300	95800/1	0	137	137	4055

Gewichte der Ratten und Gewichtsfaktor wie in Tab. 11.

Enzymaktivität im Extrazellulärraum in % der gespritzten Enzymmenge	Enzymaktivitäten in der Rückspülflüßigkeit aus der Bauchhöhle der Ratte	nicht mehr in freie Bauchhöhle auffindbare gespritzte Enzymmenge	Schwundrate der Enzyme	Schwundrate in % der gespritzten Enzymmenge
11,4	2880	8320	7040	62,8
10,8	2924	8276	7073	63,2
8,8	2292	8908	7918	70,7
13,7	1844	9356	7822	69,8
39,1	1620	9580	5206	46,5
x	984	10216	x	x
25,8	720	10480	7596	67,7
x	584	10616	x	x
18,7	448	10752	8661	77,3
16,1	808	10392	8794	78,4
3,9	5480	90320	86621	90,4
5,3	2720	93080	88001	91,9
7,6	1360	94440	87206	91,0
6,1	1360	94440	88618	92,5
4,8	1360	94440	89823	93,8
x	1360	94440	x	x
7,4	1360	94440	87384	91,2
x	1360	94440	x	x
4,0	1360	94440	90590	94,6
4,3	1360	94440	90385	94,3

Abb. 3 Lactat-Dehydrogenaseaktivitäten bezogen auf das Gewicht der Ratten

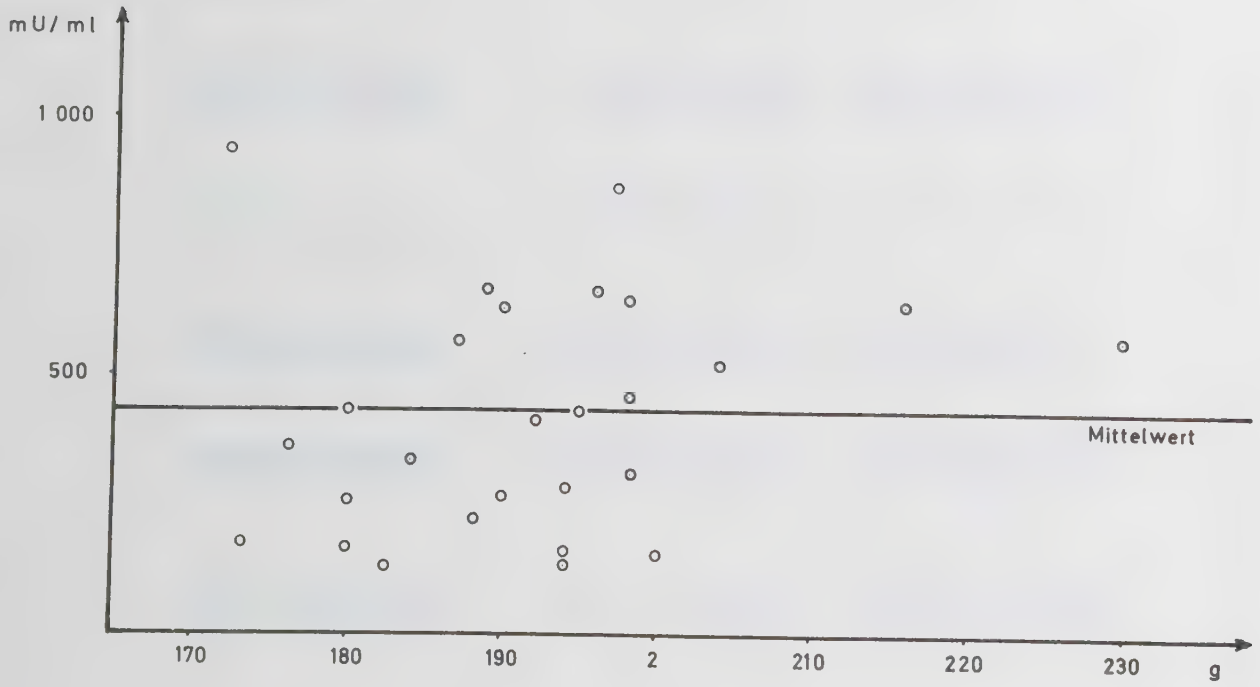


Abb. 4 Lactat-Dehydrogenaseaktivitäten im Serum bezogen auf das Gewicht der Ratten

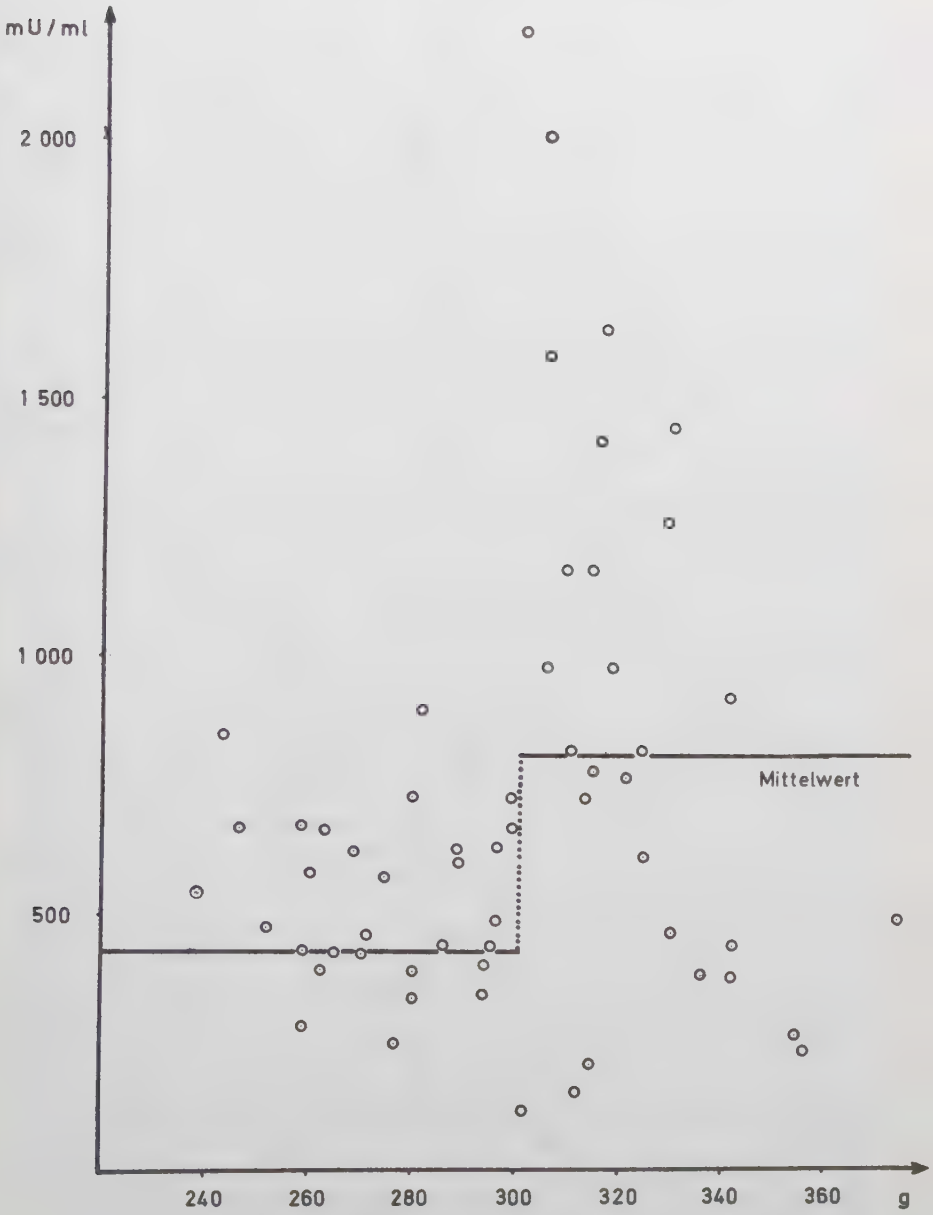


Abb. 5 Glutamat - Pyruvat - Transaminaseaktivitäten im Serum bezogen auf das Gewicht der Ratten

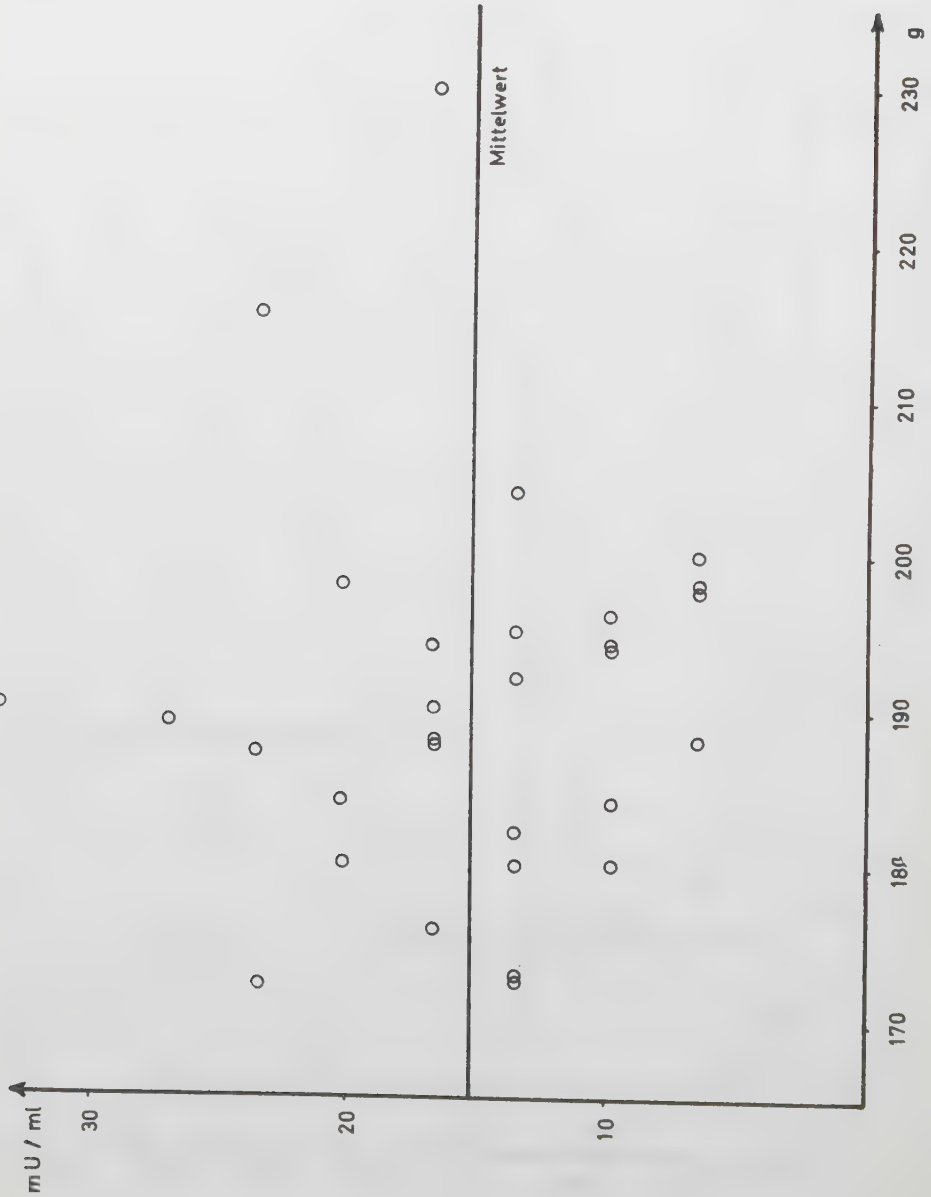


Abb. 6 Glutamat-Pyruvat-Transaminaseaktivitäten im Serum bezogen auf das Gewicht der Ratten

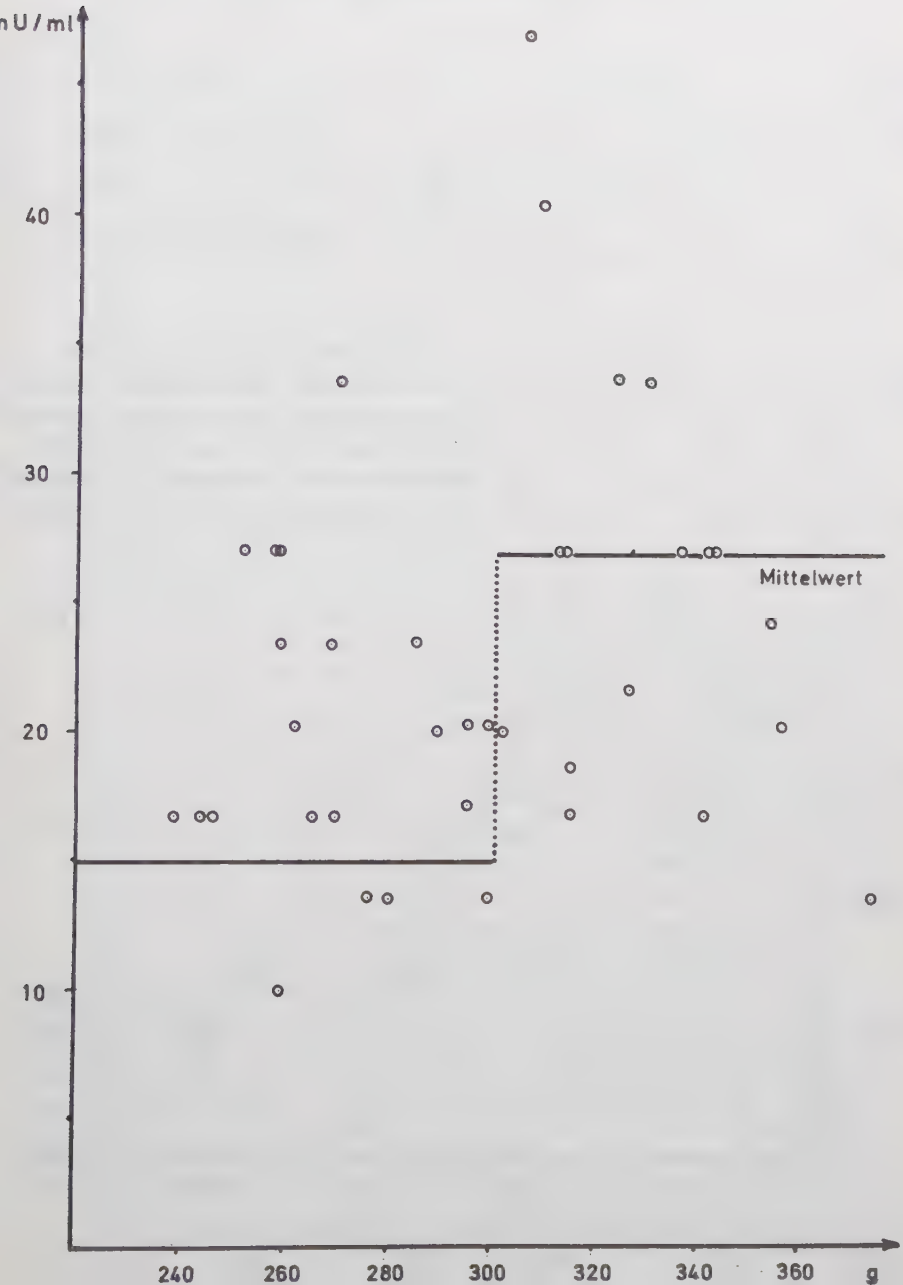


Abb. 7 Lactat-Dehydrogenaseaktivitäten im Extrazellulärraum bei 4 Versuchsserien (Mittelwerte verbunden)

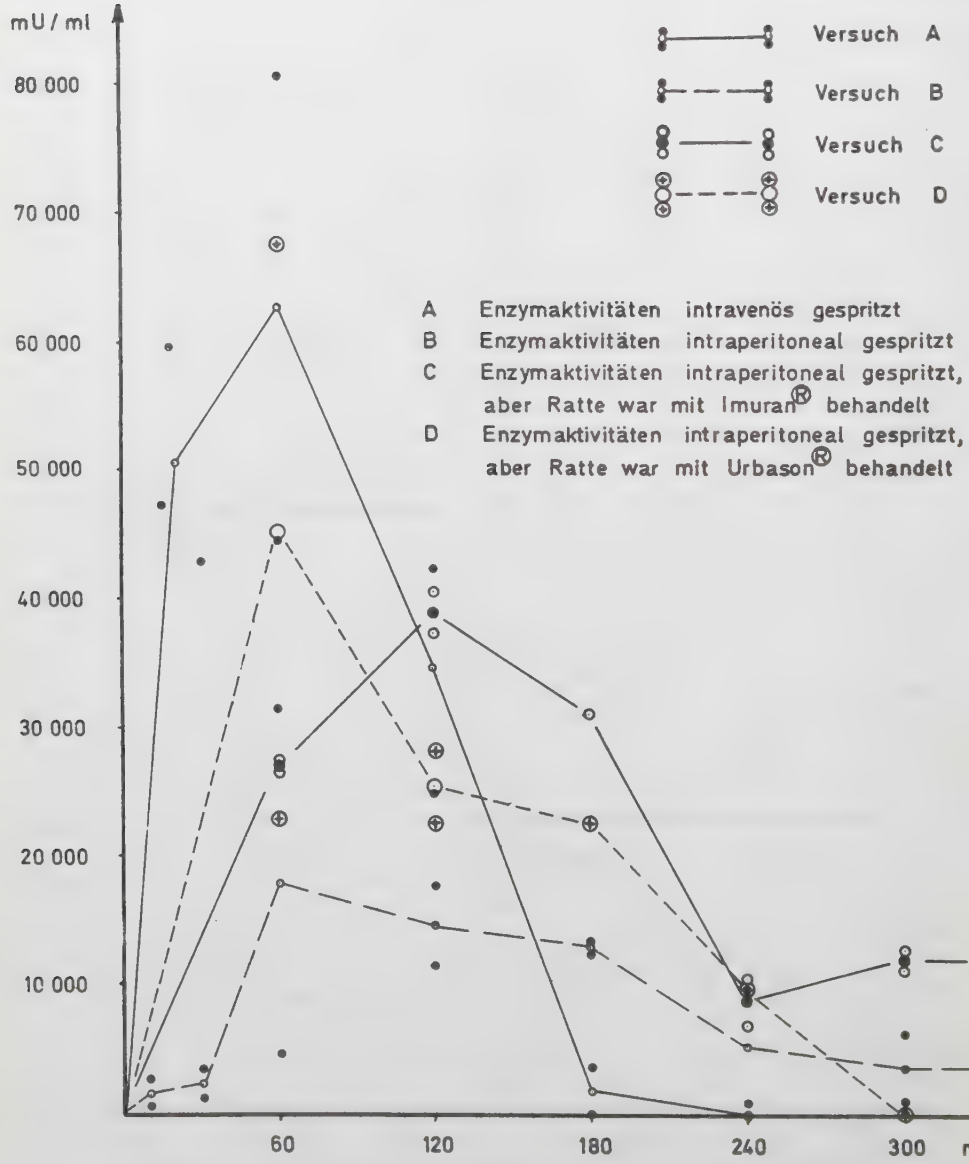


Abb. 8 Glutamat - Pyruvat - Transaminaseaktivitäten im Extrazellulärraum bei 4 Versuchsserien (Mittelwerte verbunden)

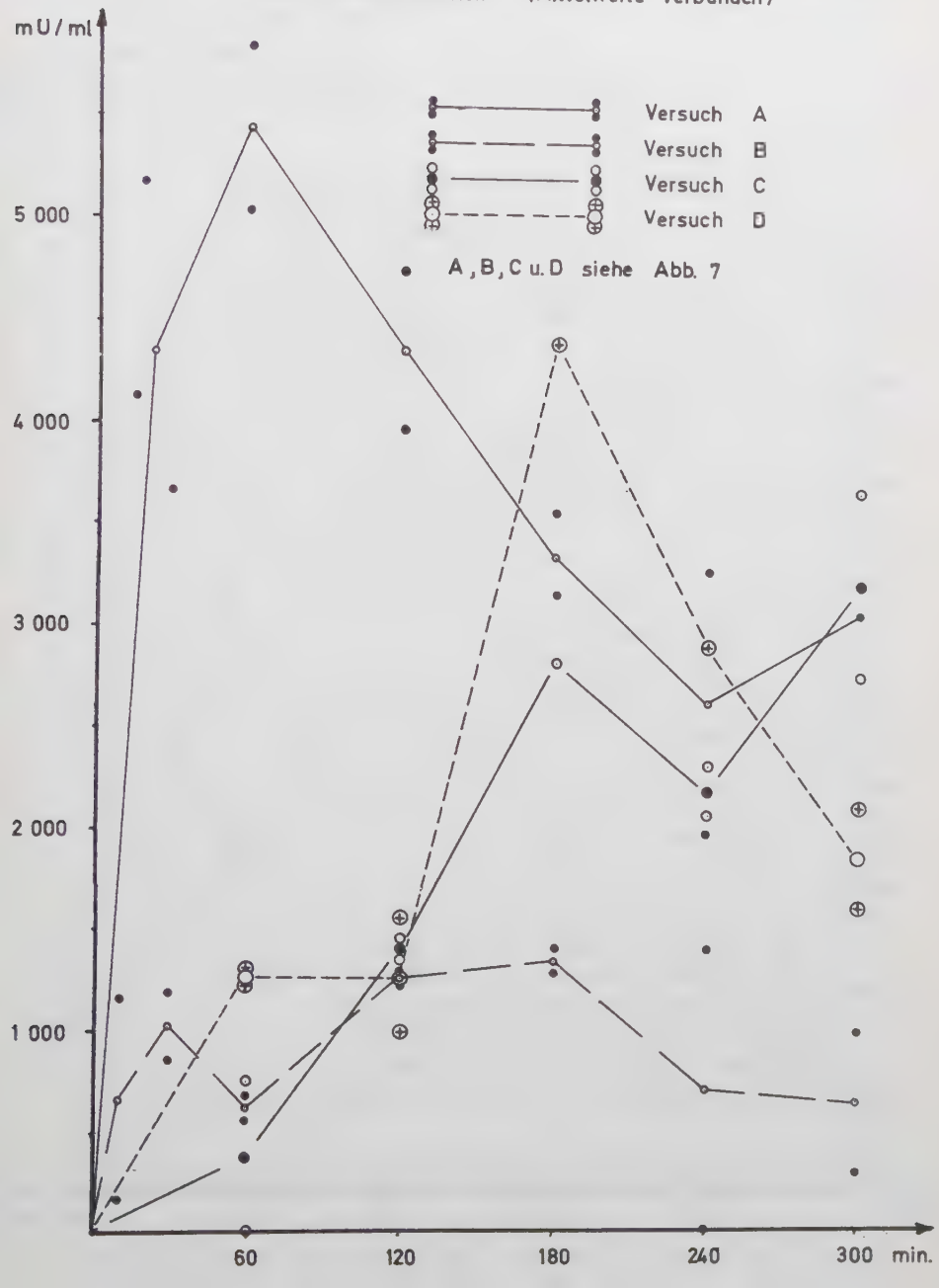


Abb. 9 Glycerinaldehyd -3-Phosphat - Dehydrogenaseaktivitäten im Extrazellulärraum bei 4 Versuchsserien (Mittelwerte verbunden)

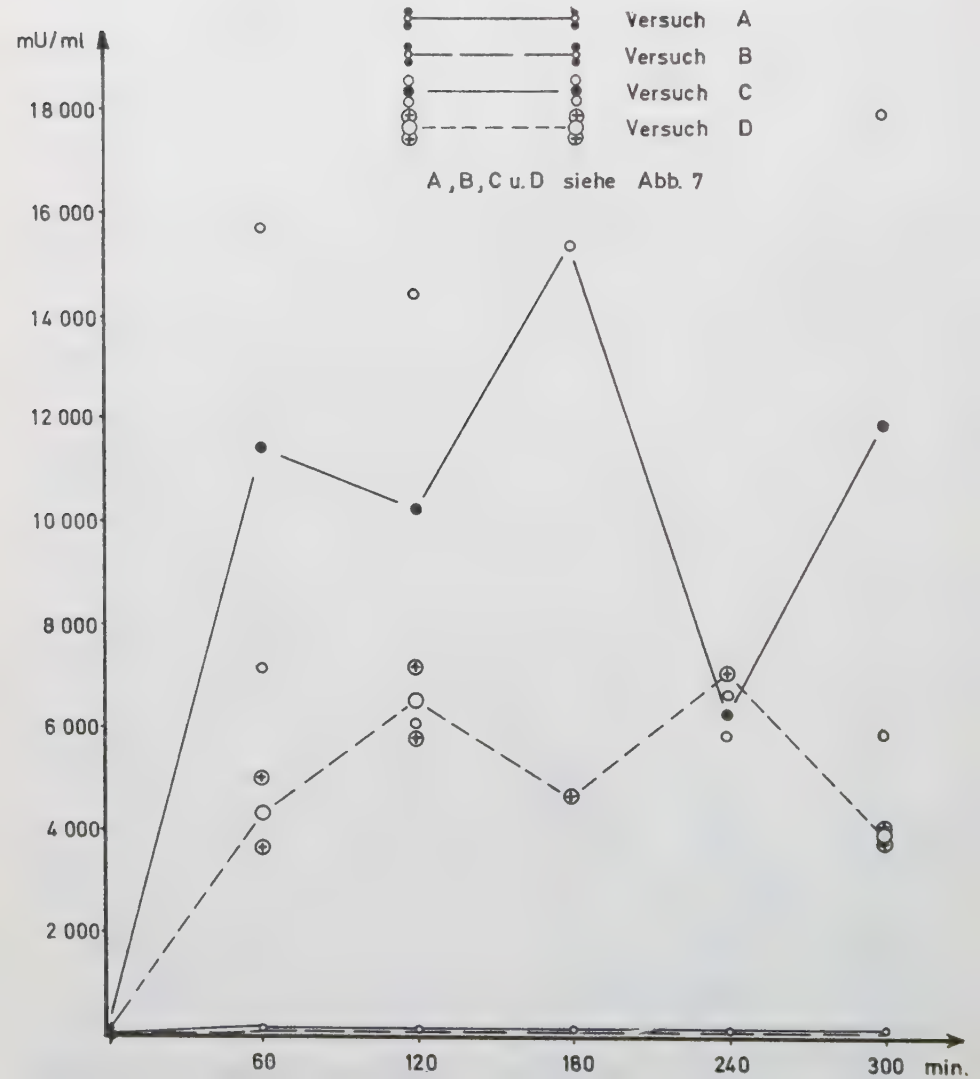


Abb. 10 Verhalten der Schwundraten der Laktatdehydrogenaseaktivitäten bei 4 Versuchsserien

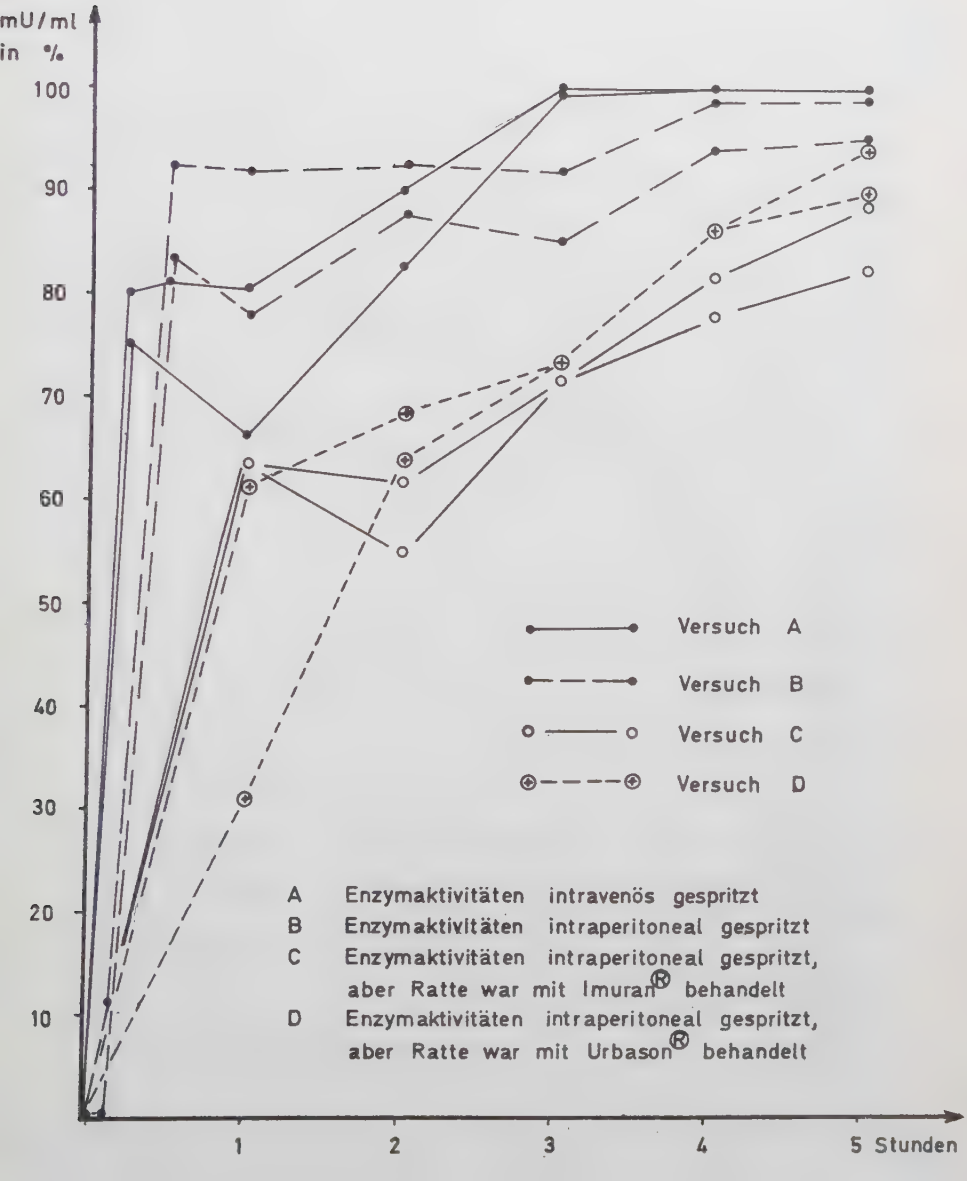


Abb. 11 Verhalten der Schwundraten der Glutamat - Pyruvat - Transaminaseaktivitäten bei 4 Versuchsserien

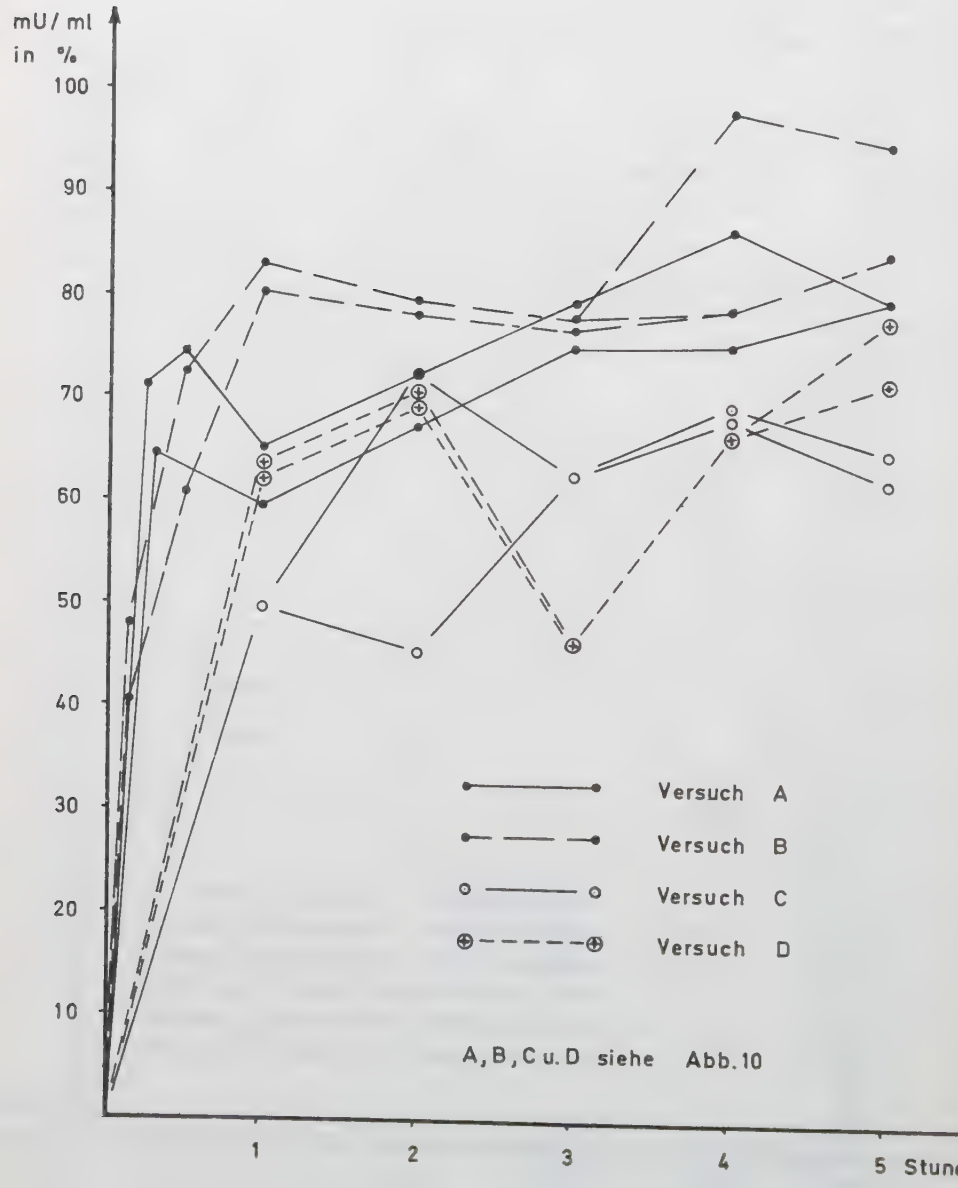
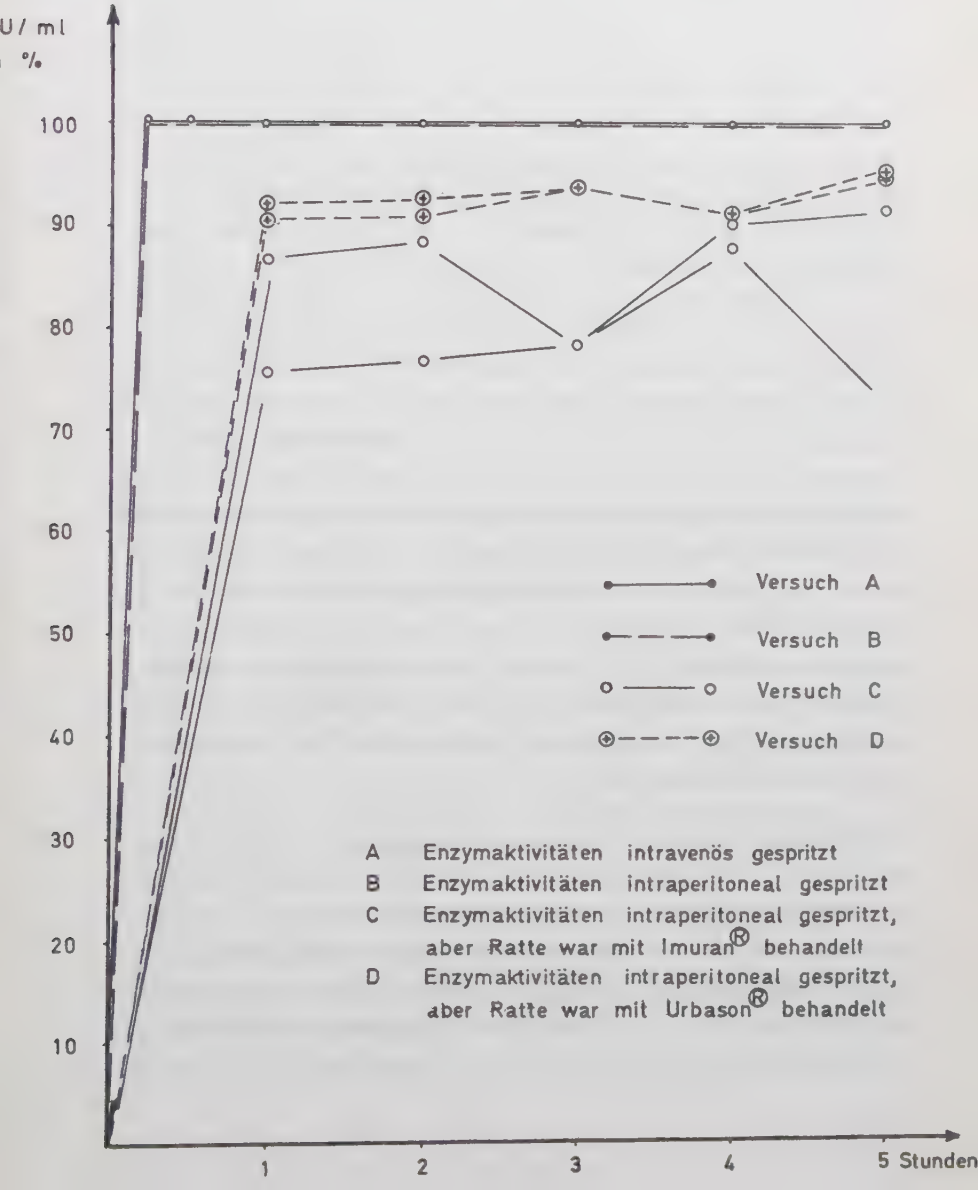


Abb. 12 Verhalten der Schwundraten der Glycerinaldehyd-3-Phosphat-Dehydrogenaseaktivitäten bei 4 Versuchsserien



V. DISKUSSION

Es gibt genügend Untersuchungsergebnisse, die darauf hindeuten, daß der Peritonealraum enge Beziehungen zum Lymphraum besitzt. Auch Substanzen mit einem hohen Molekulargewicht werden offensichtlich rasch aus dem Peritonealraum entfernt. Selbst rote Blutkörperchen, die in den Peritonealraum gelangen, z. B. nach Operationen oder Traumen, werden rasch resorbiert.

Schon 1879 übertrug PONFICK (66) erstmals Blut erfolgreich, welches er intraperitoneal infundiert hatte. Sein Verfahren wurde wiederholt auch von anderen Autoren angewandt (Lit. bei 68), geriet dann aber in Vergessenheit. Erst durch die moderne Methode der intrauterinen Bluttransfusion wurde dieses Prinzip wieder aufgenommen. Mit den modernen Methoden der elektrophoretischen Trennung des Hämoglobulins konnte nachgewiesen werden, daß die aufgenommenen Zellen nicht vernichtet werden, sondern noch nach Wochen und Monaten im kindlichen Kreislauf nachweisbar sind (24, 45). Die Lebensdauer der intraperitoneal injizierten Erythrozyten ist gegenüber den intravenös injizierten nicht verkürzt, wie durch die Methode der Differentialagglutination gezeigt werden konnte (17). Beim Menschen werden etwa 20 % der injizierten Erythrozyten resorbiert (58).

Die Eintrittspforte der Erythrozyten in das Lymphsystem ist seit mehr als 100 Jahren umstritten (Lit. bei 68). Die Diskussion geht nicht nur um den Ort der Resorption im histologischen Sinne, sondern auch um die Frage, welche Teile des Peritoneums topographisch-anatomisch gesehen zur Resorption befähigt sind (68). Heute geht die Meinung dahin, daß die Resorption korpuskulärer Teile vorwiegend, wenn nicht ausschließlich über den Zwerchfellbereich vonstatten geht (Lit. bei 68).

Für den histologisch mikroskopischen Bereich werden heute drei Wege diskutiert, auf welchen korpuskuläre Elemente und sinngemäß auch großmolekulare Substanzen wie Enzymproteine aus der Bauchhöhle in das Lymphgefäßsystem und von dort in die Blutbahn gelangen können:

1. Die Resorption durch sog. S t o m a t a.
   Nach v. RECKLINGHAUSEN u. a. soll es trichterförmige Oeffnungen von Lymphgefäßen im Endothel des Peritonäums geben (Lit. bei 68).

2. Die transzelluläre Resorption durch das Zytoplasma der Mesothelzellen des Peritoneums und der Endothelzellen der Lymphgefäße (Lit. bei 68).

3. Durch die Resorption infolge einer Phagozytose durch freie Zellen in der Bauchhöhle (68).

Über die Frage der Resorption von Zellen beim Menschen durch das Lymphsystem liegen noch keine gesicherten Ergebnisse vor. Dagegen kennt man die topographische Anatomie der Lymphbahnen gut. Beim Menschen fließt die Lymphe der ventralen Anteile des Zwerchfells zu den Lymphonoduli (lnn) sternales, Lnn diaphragmatica anteriores und von dort zum Truncus subclavius bzw. Ductus thoracicus. Die dorsalen Abschnitte des Zwerchfells werden über die Lnn coeliaci bzw. Lnn mediastenales posteriores in den Ductus thoracicus drainiert. Ein kleinerer Teil der Lymphe gelangt schließlich über Verbindungen zu den Lymphgefäßen der Interkostalräume in die Lnn intercostales (36).

Unter physiologischen Bedingungen ist dem Bauchfell die Fähigkeit eigen, die Abscheidung und Aufsaugung von Flüssigkeit auf einander abzustimmen. Dieses Gleichgewicht kann unter pathologischen Bedingungen z. B. bei Ascitesbildung erheblich gestört sein (26).

Eine besondere Bedeutung für die jeweilige Resorption aus der freien Bauchhöhle scheint der Größe des Molekulargewichts zuzukommen. Leicht diffundierende Stoffe sollen von den Blutkapillaren aufgesaugt werden. Schwer diffundierende kollcidale Substanzen wie z. B. unsere Enzymsuspensionen werden auf dem Lymphwege resorbiert (56).

Unsere Versuchsanordnung erscheint uns also geeignet, eine Lösung mit hohen Enzymaktivitäten, auch in größeren Mengen, wie wir nachweisen konnten, in relativ kurzer Zeit in das Lymphsystem zu bringen. Es ist anzunehmen, daß das Lymphsystem ein hochdifferenziertes Filtersystem besitzt, daß z. B. intraperitoneal injizierte Erythrozyten frei passieren läßt, Toxine, Bakterien müßen aber von diesem System, das der Abwehr des Eindringens von pathologischen Substanzen dient, phagozytiert werden. Bei gleichzeitiger Messung von Enzymaktivitäten im Blut und in der Lymphe fand man meistens niedrigere Werte in der Lymphe , so daß die Vermutung nahe liegt, daß der Ort des Abbaues von Enzymproteinen hier zu suchen ist.

Wie wir in unseren Rückspülversuchen zeigen konnten, schwinden die intraperitoneal injizierten Enzymaktivitäten innerhalb von 3 Stunden fast völlig aus dem Peritonealraum. Da eine rasche Inaktivierung der Enzymaktivitäten in dieser Höhe durch invitro-Versuche unwahrscheinlich gemacht wurde, bleiben für den Schwund der Enzyme zwei Wege:

1. Die Phagozytose durch Makrophagen des Peritonäums selbst

2. Der Abtransport der Enzymlösungen über den oben ausführlich beschriebenen Weg des Lymphgefäßsystems.

Wir meinen, daß der letztgenannte Weg unter physiologischen Bedingungen die größte Bedeutung hat. Die Beeinflussung des mesenchymalen Gewebes durch Azathioprine (Imuran^{R}) 6-(1-Methyl-4-nitroimidazol-5-ylthio)-purin

und Glukokortikoid (Urbason^{R}) Methylprednisolon führt zu einem deutlich höheren Anstieg der untersuchten Enzymaktivitäten im Blutplasma. Die Resorptionsgeschwindigkeit der Enzymaktivitäten war dabei anscheinend gering vermindert. Diese Ergebnisse wären nicht möglich, wenn die Enzymproteine im Peritonealraum selbst phagozytiert, aufgehalten und aufgelöst würden.

Das Protein eliminierende System des Organismus scheint auch im Hinblick auf die verschiedenen Enzymproteine hoch spezialisiert zu sein. Darauf deuten die Ergebnisse mit den drei von uns untersuchten Enzymen hin. LDH und GPT lassen sich unter physiologischen Bedingungen in einer gewissen konstanten Aktivität im Blutplasma der Ratten nachweisen, GAPDH dagegen nicht. Auch wenn wir fast 100 000 mU GAPDH intraperitoneal injizierten, tauchte keine Enzymaktivität (oder wenigstens mit unserer Methode nicht meßbare) im Plasma auf. Bei gleichzeitiger intraperitonealer Gabe von LDH und GPT kam es schon zu einem leichten Anstieg im Blutplasma. Das Filtersystem eliminiert also offensichtlich aus bisher unbekannten Gründen einige Enzyme gründlicher und schneller aus der Lymphe als andere Enzyme.

Die Bestätigung dieser Befunde würde erklären, warum einige Enzyme gute Indikatoren für eine Organerkrankung sind, und andere Enzyme, welche in ähnlich hoher intrazellulärer Aktivität nachweisbar sind, keinen krankheitsspezifischen Enzymaktivitätsanstieg im Serum erkennen lassen.

Eine Bremsung des Mesenchyms durch Imuran^{R} und Urbason^{R} ließ einen wesentlich größeren Teil der untersuchten Enzyme im Blutplasma der Ratten auftauchen. Selbst eine GAPDH-Aktivität ließ sich nun nachweisen. Offensichtlich gelingt mit diesen pharmakologisch wirksamen Substanzen eine Bremsung der Phagozytoseleistung oder -geschwindigkeit der Makrophagen des Mesenchyms.

Bei der Ratte werden die auf verschiedene Weise injizierten Enzymaktivitäten verschieden rasch eliminiert. Sowohl bei der intravenösen als auch bei der intraperitonealen Injektion kehren die Plasmaaktivitäten der LDH rascher zu den Ausgangswerten zurück, als bei der GPT. Möglicherweise sind klinische Befunde bei der Hepatitis auf diese Weise zu begründen:

Bei der Hepatitis kommt es zu einem Anstieg der Transaminasen (GPT u. a.) auf das 50 - 300-fache, während sich die LDH-Aktivität meist nur verdoppelt oder verdreifacht, obgleich in der Leberzelle die LDH in einer höhere Aktivität und ebenso leicht löslich nachweisbar ist wie die GPT (73, 74).

Unsere Ergebnisse könnten wesentlich zum Verständnis der Brauchbarkeit und des Versagens der heutigen klinischen Enzymdiagnostik beitragen.

Die morphologisch funktionellen Beziehungen zwischen geschädigtem Organ und Eliminationssystem wären mit ausschlaggebend, ob eine Gewebsschädigung zu einem Anstieg der Enzymaktivitäten im Plasma führt. Zu postulierende spezifische Rezeptoren für jedes einzelne Enzymprotein und deren Kapazität würden entscheiden, welches Enzym in welcher Menge auftaucht und für die Diagnostik herangezogen werden kann. Ähnlich wie bei einer Entzündung Toxine von Lymphknoten zu Lymphknoten zentralwärts wandern, müßten auch die Enzyme eine Abbaustation nach der anderen durchströmen, ehe sie über den Ductus thoracicus in das Blutplasma gelangten. Die Enzymdiagnostik bei Lebererkrankungen hätte deshalb eine so entscheidene Bedeutung, weil der Extrazellulärraum der Leber über die Disse'schen Räume mit dem Blut kommuniziert. Bei Organen mit Verbindung zur Körperoberfläche, mit einer reichlichen Zuordnung von Lymphknoten wie Niere, Magen-Darmtrakt und Lunge

wurde bisher trotz ausgedehnter klinischer Untersuchungen noch kein wirklich sicherer krankheitsspezifischer Enzymaktivitätsanstieg wie bei den Lebererkrankungen gefunden.

Auch die Brauchbarkeit der Enzymdiagnostik, z. B. beim Herzinfarkt, bei hämatologischen Erkrankungen und der Muskeldystrophie, läßt sich aus dem Verhältnis zwischen der Menge der freigesetzten Enzymproteine und den räumlich funktionellen Beziehungen des Extrazellulärraumes der betroffenen Organe zu Lymphgefäßsystem und Blut erklären.

VI. ZUSAMMENFASSUNG

Bei 98 Albinoratten vom Stamme Vistar Nr. 447 injizierten wir hochaktive Enzymlösungen, die aus homogenisierten Rattenlebern frisch gewonnen wurden, intraperitoneal. Innerhalb 2 - 3 Stunden schwinden die Enzymaktivitäten aus dem Peritonealraum. Sie werden wahrscheinlich zum größten Teil über das lymphatische System resorbiert. Bestimmt wurden die Aktivitäten von drei Enzymen: 1. der Lactatdehydrogenase, 2. der Glutamat-Pyruvat-Transaminase und 3. der Glycerinaldehyd-3-Phosphatdehydrogenase. Die Normalwerte dieser Enzyme bei unseren ausgewählten Ratten sind:

LDH	ca.	400	mU/ml Serum
GPT	ca.	20 - 25	mU/ml Serum
GAPDH		0	mU/ml Serum

Mißt man gleichzeitig die Aktivitäten der untersuchten Enzyme im Blutplasma, so ist hier, auch unter Umrechnung auf den gesamten Extrazellulärraum, nur ein geringer Anstieg mit einem Maximum bei ca. 2 Stunden zu beobachten. Den höchsten prozentualen Anstieg konnte man bei der GPT, den nächst hohen bei der LDH ermitteln, während keine Aktivität der GAPDH in das Blutplasma gelangt.

Daraus möchten wir folgende Schlüsse ziehen:

1. Das RES des lymphatischen Systems ist am endogenen Enzymproteinabbau entscheidend beteiligt.

2. Die Enzymelimination aus dem Plasma ist ein differenzierter, hochspezifischer Vorgang. Verschiedene Enzymproteine werden sehr unterschiedlich rasch und mehr oder weniger vollständig entfernt.

Durch Vorbehandlung der Versuchstiere mit 6-(1-Methyl-4-nitroimidazol-5-ylthio)-purin (Imuran^{R}) und Methylprednisolon (Urbason^{R}) versuchten wir mit deren bekannten pharmakologischen Effekt auf das mesenchymale Gewebe das enzymabbauende System zu beeinflussen. Die gefundenen Ergebnisse passen gut zu dieser theoretischen Vorstellung, daß durch diese Substanzen das RES des lymphatischen Gewebes gebremst wird. Nach Medikation kam es nach intraperitonealer Injektion gleich hoher Enzymlösungen zu einem wesentlich höheren Enzymaktivitätsanstieg im Plasma, bei nur gering verzögerter Schwundrate im Peritonealraum. Auch die GAPDH war jetzt in beträchtlicher Aktivität von max. 615 mU/ml Serum nachweisbar. Unsere Erklärung dafür ist folgende: Durch Hemmung der phagozytierenden Zellen des lymphatischen Gewebes fließen mehr Enzymproteine am gebremsten Enzymeliminationssystem vorbei in das Blutplasma.

Diese Beobachtungen können wesentlich zum Verständnis der Erfolge und Mißerfolge der klinischen Enzymdiagnostik bei der Erkennung von Organerkrankungen beitragen. Die Drainage des Extrazellulärraumes über das lymphatische System und das vaskuläre System wäre entscheidend dafür, ob eine Gewebsschädigung zu einem Enzymaktivitätsanstieg im Blutplasma führt oder nicht.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Privatdozenten Dr. med. H. Haug für die Überlassung des Themas und die Einführung in die Labortechnik, wo er mir während des praktischen Teils des Arbeit mit Rat und Tat zur Seite stand.

Herrn Professor Dr. med. H. Franke danke ich für die Übernahme des Korreferates und für die mir gebotene Möglichkeit, an seiner Klinik arbeiten zu können.

LITERATURVERZEICHNIS

1. AD'ADDABBO, Klaus, D. — Untersuchungen über ^{131}J-Markierung von LDH. Acta isotopica 1 (1961) 39

2. ADDIS, T. — Proteinuria and cylindruria. Proc. calif. Acad. Med. pp 38-52, 1931/32

3. AMELUNG, D. — Untersuchungen zur Größe der Eliminationsgeschwindigkeit von Fermenten aus dem Kaninchen-Serum. Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 318 (1960) 219

4. AMELUNG, D. — Fermentdiagnostik interner Erkrankungen. Stuttgart 1964 (Thieme Verlag)

5. BAILEY, K. — Cristalline albumin, component of skeletal muscle. Nature, London 145 (1940) 934-935

6. BARANDUM, S., H. BUCHLER, A. HÄSSIG — Das Antikörpermangelsyndrom. Agammaglobulinämie. Schweiz. med. Wschr. 86 (1956) 33-36

7. BENACERRAF, B., G. BIOZZI, B. N. HALPERN, C. STIEFEL — Physiopathology of the reticulo-endothelial system. New York; Oxford 1957 p. 52

8. BERSON, S.A., R. S. YALOW, S. S. SCHREIBER — Tracer experiments with ^{131}J labeled human serum albumin: Distribution and degradation studies. J. clin. Invest. 32 (1953) 746-768

9. BODANSKY, O. — Effect of 6-methylpurine phosphohexose isomerase and lactic dehydrogenase activities of plasma, erythrocytes, liver, and skeletal muscle. Cancer Res. 18 (1958) 687

10. BROCK, N., H.-J. HOHORST, B. SCHNEIDER, G. SIEMS — Bestimmungen der sauren und alkalischen Serumphosphatasen als Routinemethode. Arzneimittelforsch. 14 (1964) 757

11. BRUNS, F.H., W.JAKOB
Studien über Serumenzyme bei Erkrankungen der Leber. Die Aktivität der Phosphohexose-isomerase, Aldolase und alkalischen Phosphatase.
Klin.Wschr. 32 (1954) 1041

12. BRUNS, F.H., J.NEUHAUS
Glycolytic serum and liver enzym activities in experimental liver damage.
Arch.Biochem. 55 (1955) 588-591

13. BRUNS, F.H., E.BROSSWITZ, H.DENNEMANN, H.D.HORN, E.NOLTMANN
Studien über die Ursachen des Enzymverlustes der geschädigten Zelle.
Klin.Wschr. 39 (1961) 342-346

14. BRUNS, F.H., J.WOLLENWEBER
Serumenzyme als Indikatoren der experimentellen CCl_4-Leberschädigung und ihrer therapeutischen Beeinflussung.
Klin.Wschr. 40 (1962) 995

15. BUFFA, P., R.A.PETERS
The in vivo formation of citrate induced by fluoracetate and its significance.
J.Physiol.(Lond.) 110 (1949) 488-500

16. CANN, J.R. R.A.BROWN, J.G.KIRKWOOD, J.H.HINK jr.
Fractionation of human immune J globulin.
J.biol.Chem. 185 (1950) 663

17. CLAUSEN, J.
Studies on the effect of intraperitoneal blood-transfusion.
Acta paediat.(Uppsala) 27 (1940) 24-33

18. COHEN, S., A.H.GORDON, C.MATTEWS
Catabolism of gamma-globulin by the isolated perfused rat liver.
Biochem.J. 82 (1962) 197

19. DEWEY, M.M., J.L.CONKLIN
Starch gel electrophoresis of LDH from rat kidney.
Proc.Soc.exper.Biol.Med. 105 (1960) 492-494

20. DUNN, M., J.MARTIN, K.R.REISSMANN
The disappearance rate of glutamic oxalacetic transamaninase from the circulation and its distribution in the body's fluid compartments and secretions.
J.Lab.clin.Med. 51 (1958) 259

21. ELLIOTT, B.A., E.M.JEPSON, J.H.WILKINSON
Serum α-hydroxybutyrate dehydrogenase - - a new test with improved specificity for myocardial infarktion.
Clin.Sci. 23 (1962) 305-316

22. ELLIOTT, B.A., J.H.WILKINSON
The serum "α-hydroxybutyrate dehydrogenase" in diseases other than myocardial infarction.
Clin.Sci. 24 (1963) 343-355

23. FAHEY, J.L., A.G.ROBINSON
Factors controlling serum gamma-globulin concentration.
J.exp.Med. 118 (1963) 845

24. FISCHER, K., V.MÜLLER
Zum Nachweis mütterlicher Erythrozyten im Neugeborenenblut (Immunfluoreszenztechnik).
Mschr.Kinderheilk. 115 (1967) 147-148

25. FLEISCHER, G.A., K.G.WAKIM
The fate of enzymes in body fluids. An experimental study.
I.Disappearance rates of glutamic-pyruvic transaminase under various conditions.
J.Lab.clin.Med. 61 (1963) 76

26. FÖLDI, M.
Störungen des Lymphgefäßsystems im Bauchraum.
In Aktuelle Gastroenterologie, Stuttgart (1968) G. Thieme-Verlag Seite 33-41

27. FORSTER, G., E.JENNY
Der l-Phosphofructoaldolase-Test in der Leberdiagnostik.
Helv.med.Acta 26 (1959) 673

28. FRANKEN, F.H.
Die Glutaminsäure-Brenztraubensäure-Transaminase bei Leberkrankheiten.
Klin.Wschr. 35 (1957) 1203

29. GELB, D., M.WEST, H.J.ZIMMERMANN
Serum enzymes in disease.
IX. Analysis of factors responsible for elevated values in infectious mononucleosis.
Amer.J.Med. 33 (1962) 249

30. GERLACH, U., H.LOSSE, C.G.SCHMIDT
Beitrag zur Erkennung intravarsaler Hämolysen als Ursache beim akuten Nierenversagen.
Klin.Wschr. 39 (1961) 195-197

31. GERLACH, U. — Enzymaktivität des Serums im akuten Syndrom. Med. Welt 16 (1961) 880-884

32. GREEN, D.E., H.BERNET — Biological oxidations. Ann.Rev.Biochem. 24 (1955) 1

33. GÜLZOW, M. — Untersuchungen der Pancreasfermententgleisung. Internist (Berlin) 5 (1964) 88-93

34. GUTMAN, E.B., A.B.GUTMAN — Estimation of "acid" phosphatase activity of blood serum. J.biol.Chem. 136 (1940) 201-209

35. GUTMAN, A.B., B.M.HOGG, K.B.OLSON — Increased serum phosphatase activity without hyperbilirubinemia after ligation of hepatic ducts in dogs. Proc.Soc.exper.Biol.a.Med. 44 (1940) 613-617

36. HAFFERL, A. — Lehrbuch der topographischen Anatomie. Berlin, Göttingen, Heidelberg (Springer Verlag) 1957

37. HARD, W.L., R.K.HAWKINS — Role of bile capillaries in secretion of phosphatase by rabbit liver. Anat.Rec. 106 (1950) 395-411

38. HAUG, H. — Enzymaktivitäten der LDH, MDH, ALD, GOT, GPT im menschlichen Serum und Plasma und im Erythrocyten bei Polycythaemia vera. Klin.Wschr. 44 (1966) 702-707

39. HAUG, H., W.MEYER, J.WALTER — Enzymaktivitäten im menschlichen Serum nach posttraumatischer Milzexstirpation. Klin.Wschr. 43 (1965) 49

40. HAUSS, W.H., U.GERLACH, E.SCHÜRMEYER — Über die Pathogenese und klinische Bedeutung der Hyperfermentämie. Dtsch.med.Wschr. 83 (1958) 1310-1315

41. HESS, B. — Enzyme im Blutplasma. Stuttgart 1962 (Thieme Verlag)

42. HILL, B.R., C.LEVI — Elevation of a serum component in neoplastic diseases. Cancer Res. 14 (1954) 513

43. HILL, H.J. — Serum lactate dehydrogenase in cancer patients. J.nat.Cancer Inst. 18 (1957) 307

44. HOF, J., L.WOLLER — Bestimmung der Milchsäuredehydrogenaseaktivität im Blutplasma verschiedener Organe, vor allem der Milz bei Rindern. Klin.Wschr. 34 (1956) 98

45. JONES, W.R. — Immunological aspects of intrauterine transfusion. Brit.med.J. 3 (1968) 280

46. KATZ, J., S.ROSENFELD, A.L.SELLERS — Role of the kidney in plasma albumin catabolism. Amer.J.Physiol. 198 (1960) 814-818

47. -- — Sites of plasma albumin catabolism in the rat. Amer.J.Physiol. 200 (1961) 1301-1306

48. KREBS, E.G. — In S.P.Colowick und N.O.Kaplan, Methods in Enzymology. Vol.I, 407 (1955) Acad.Press. 60-62

49. KUBLI, F. — Transaminase, LDH und alkalische Phosphatase in der Spätschwangerschaft, unter der Geburt und bei Toxikose. Gynaecologia 151 (1961) 72-74

50. LADUE, J.S., F.WROBLEWSKI, A.KARMEN — Serum glutamic oxalacetc transaminase activity in human acute transmural myocardial infarction. Science 120 (1957) 497-499

51. LADUE, J.S. — Serum glutamic oxalacetic transaminase, lactic dehydrogenase, glutamic pyruvic transaminase activity in evaluation of heart muscle damage. Amer.J.Cardiol. 1 (1958) 308

52. LONDON, I.M. — Studies on the rates of formation of serum proteins in man. The Robert Gould Research Foundation, Inc., Cincinnaty. Symposia on nutrition 2 (1950) 72

53. MARTIN, C.M., R.S.GORDON, N.B.Mc CULLOUGH
Aquired hypogrammaglobulinemia in an adult. Report of a case, with clinical and experimental studies.
New Engl.J.Med. 254 (1956) 449

54. MARTIN, Ch.M., R.S.GORDON, W.R.FELTS, N.B. Mc CULLOUGH, BETHESDA
Studies on gamma globulin.
J.Lab.Clin.Med. Nr.4, 49 (1957) 607-616

55. MASSARAT, S.
Studien über Schwundrate und Alterung der zugeführten ^{131}J-markierten, homologen GOT und GPT beim Schwein.
Verh.dtsch.Ges.inn.Med. 71 (1965) 946

56. MASSHOF, W.
Über Abbau artfremden, artgleichen und körpereigenen Blutes.
Beitr.path.Anat. 109 (1944-47)

57. MATSCHINSKI, F., O.WIELAND
Über Serumveränderungen und Störungen der Mitochondrienfunktion bei experimenteller Phalloidinvergiftung.
Biochem.Z. 333 (1960) 33-47

58. MENGERT, W.F., S.W.COBB, W.W.BROWN
Introduction of blood into the peritoneal cavity: An experimental study.
J.Amer.med.Ass. 147 (1951) 34-37

59. MERTEN, R., H.G.SOLBACH
Enzymverteilungsmuster des glycolytischen Systems und Citronensäurecyclus im Plasma Krebskranker.
Klin.Wschr. 39 (1961) 222

60. NEILANDS, J.B.
Studies on lactic dehydrogenase of heart. I.Purty, Kinetics and Equiliosia.
J.biol.Chem. 199 (1952) 373

61. NEUHAUS, G., I.BENNHOLD, M.KESSEL, H.WELLER
Beitrag zur Folge der Elimination von Plasmaenzymen an Hand von Untersuchungen bei einem Patienten mit schwerer Tetrachlorkohlenstoffvergiftung.
Klin.Wschr. 41 (1963) 619-620

62. NYDICK, J.P., P.RIEGSEGGER, F.WROBLEWSKI J.S. LA DUE
Variations in serum glutamic oxalacetic transaminase activity in experimental and clinical coronary insufficiency, pericarditis and pulmonary infarction.
Circulation 15 (1957) 324

63. PFLEIDERER, G., E.D.WACHSMUTH
Age and function dependent differentation of LDH of human organs.
Biochem.Z. 334 (1961) 185-198

64. PFLEIDERER, G., D.JECKEL
Individuelle Milchsäuredehydrogenasen bei verschiedenen Säugetieren.
Biochem.Zschr. 329 (1957) 370-380

65. PLAGEMANN, P.G.W., K.F.GREGORY F.WROBLEWSKI
The electrophoretically distinct forms of mammalian LDH 1.Distribution of LDH in rabbit and human tissues.
J.biol.Chem. 235 (1960) 2282-7

The electrophoretically distinct forms of mammalian LDH. 2. Properties and interrelationships of rabbit and human isoenzymes.
J.biol.Chem. 235 (1960) 2288-2293

66. PONFICK
Über ein einfaches Verfahren der Blutübertragung.
Ber.klin.Wschr. 16 (1879) 489

67. REICHARD, H.
Ornithine carbamyl transferase in dog serum on intravenous injection of enzyme, choledochus ligation, and carbon tetrachloride poisoning.
J.Lab.clin.Med. 53 (1959) 417

68. REMMELE, W.
Intraperitoneale Bluttransfusion.
Klin.Wschr. 44 (1966) 1329

69. RICHTERICH, R.
Enzympathologie.
Berlin, Göttingen, Heidelberg 1958 (Springer Verlag)

70. RIGAS, D.A., C.G.HELLER
Amount and nature of urinary proteins in normal human subjects.
J.clin.Invest. 30 (1951) 853-861

71. RIVA, G., S.BARANDUN
Nuklearmedizinische Untersuchung des Eiweißstoffwechsels.
Vortr.dtsch.Ges.Verdau- und Stoffwechselkr. 30.09.1967 Hamburg

72. RIVA, G., S. BARANDUN — Nuklearmedizinische Untersuchungen des Eiweißstoffwechsels in der Gastroenterologie. Aktuelle Gastroenterologie. Stuttgart 1968 (G. Thieme Verlag)

73. SCHMIDT, E., F. W. SCHMIDT — Enzymmuster menschlicher Gewebe. Klin. Wschr. 19 (1960) 957

74. SCHMIDT, E., F. W. SCHMIDT — Zur Pathophysiologie von enzymatischen Veränderungen bei Lebererkrankungen. In WILDHIRT, E.: Fortschritte der Gastroenterologie S. 302, München, Berlin (1960) (Urban und Schwarzenberg)

75. SCHMIDT, E., F. W. SCHMIDT — Enzymmuster menschlicher Gewebe als Grundlage diagnostischer Verwertung. Regensburger Jahrbuch für ärztl. Fortbildung 12 (1964) 207

76. SCHMIDT, E., F. W. SCHMIDT, C. HERFORTH — Zellschädigung und Enzymaustritt in Leber und Milz. Thieme Verlag Stuttgart (1967) 259-271

77. SELLERS, A. L. and others — Electrophoretic study of urinary protein in rat. J. exp. Med. 95 (1952) 465-472

78. SELLERS, A. L., S. SCHMITH III, J. MARMORSTON, H. C. GOODMAN — Studies on mechanism of experimental proteinuria. J. exp. Med. 96 (1952) 643-652

79. SELLERS, A. L., N. GRIGGS, J. MARMORSTON, H. C. GOODMAN — Filtration and reabsorption of protein by kidney. J. exp. Med. 100 (1954) 1-10

80. SIBLEY, J. A. — Significance of serum aldolase levels. Ann. N. Y. Acad. Sci. 75 (1968) 339

81. SOLBACH, H. G., A. ENGELHARDT, R. MERTEN — Unterschiede der Enzymaktivitäten in Serum und Plasma und ihre Bedeutung für die klinische Diagnostik. Klin. Wschr. 40 (1962) 1136-1139

82. STRANDJORD, P. E., K. E. THOMAS L. P-WHITE — Studies on isocitric and lactic dehydrogenase in experimental myocardial infarction. J. clin. Invest. 38 (1959) 2111

83. STERLING, K.
The turnover rate of serum albumin in man as measured by I^{131} tagged albumin.
J. clin. Invest. 30 (1951) 1228

84. TSAO, M.U.
Heterogeneity of tissue dehydrogenases.
Arch. Biochem. Biophys. 90 (1960) 234-8

85. VAUGHAN, J.H., A. ARMATO, J. GOLDTHWAITE, P. BRACHMAN, C. B. FAVOUR, T. B. BAYLES
Fate of intravenously injected labeled gamma globulin in the normal subject and in patients with rheumatoid arthritis.
J. clin. Invest. 31 (1952) 668

86. VESELL, E.S., A. G. BEARN
Isoenzymes of LDH in human tissues.
J. clin. Invest. 40 (1961) 586

87. VOLWILER, W., K. FREMONT-SMITH, M. P. MAC MARTIN
Turnover rates of serum proteins in cirhotic man.
J. clin. Invest. 31 (1952) 668

88. WACHSTEIN, M., F. G. ZAK
Histochemical distribution of alkaline phosphatase in dog liver after experimental biliary obstruction.
Proc. Soc. exper. Biol. u. Med. 62 (1946) 73-76

89. WACHSTEIN, M.
Influence of experimental kidney damage on histochemically demonstrable lipase activity in rat.
Comparison with alkaline phosphatase activity.
J. exp. Med. 84 (1946) 25-36

90. WAKIM, K.G., G.A. FLEISCHER
The fate of enzymes in body fluids - an experimental study - II Disapperance rates of glutamic-oxalacetic transaminase under various conditions.
J. Lab. clin. Med. 61 (1963) 86

91. WARBURG, O., W. CHRISTIAN, A. GRIESE
Wasserstoffübertragendes Co-Ferment, seine Zusammensetzung und Wirkungsweise.
Biochem. Z. 282 (1935) 157

92. WARBURG, O., W. CHRISTIAN
Gärungsfermente im Blutserum von Tumor-Ratten.
Biochem. Z. 314 (1943) 399

93. WARBURG, O., E. HIEPLER
Versuche mit Ascites-Tumorzellen.
Z. Naturforsch. 7 b (1953) 193

94. WARBURG, O., G. LANGE — Über das Verhalten von Ascites-Krebszellen zu Zymohexase. Z. Naturforsch. 9 b (1954) 109

95. WIELAND, T., G. PFLEIDERER — Nachweis der Heterogenität von Milchsäuredehydrogenasen verschiedenen Ursprungs durch Trägerelektrophorese. Biochem. Z. 329 (1957) 112-116

96. WIELAND, T., G. PFLEIDERER, I. HAUPT, W. WÖRNER — On the differences in lactic acid dehydrogenases. IV. Quantitative determination of various enzyme distribution patterns. Comparative analysis in various classes. Biochem. Z. 332 (1959) 1-10

97. WIENER, A.S. — The half-life of the passively acquired antibody globulin molecule in infants. J. exp. Med. 94 (1951) 213-221

98. WIENER, A.S., E.B. GORDON — Studies on human serum gamma globin. I. Half-life and rate of production. J. Lab. clin. Med. 49 (1957) 258-262

99. WHITE, L.P. — Serum enzymes. II. Glycolytic enzymes in patients with cancer and other diseases. J. nat. Cancer Inst. 21 (1958) 671

100. WILKINSON, J.H. — Blood enzymes in diagnosis. Sci. Basis Med. Ann. Rev. (1961) 108-128

101. WILKINSON, J.H. — Isoenzymes, with special reference to new enzyme tests in myocardial infarction. Proc. roy. Soc. Med. 56 (1963) 177-179

102. WOHLGEMUTH, J. — Über eine neue Methode zur quantitativen Bestimmung des diastatischen Ferments. Biochem. Z. 9 (1908) 1

103. WROBLEWSKI, F., G. JERVIS, J.S. LA DUE — The diagnostic, prognostic and epidemiologic significance of serum glutamic oxalacetic transaminase alterations in acute hepatitis. Ann. intern. Med. 45 (1956) 782

104. WROBLEWSKI, F., J.S. LA DUE — Serum glutamic oxalacetic transaminase as an index of liver destruction and disease. J. Lab. clin. Med. 44 (1954) 958

105. WROBLEWSKI, F., J.S. LA DUE
Serum glutamic oxalacetic transaminase activity as an index of liver cell injury: A preliminary report. Ann. intern. Med. 43 (1955) 343

106. WROBLEWSKI, F., J.S. LA DUE
Serum glutamic pyrucic transaminase in cardiac and hepatic disease. Proc. Soc. exp. Biol. Med. 91 (1956) 569

107. WROBLEWSKI, F., J.S. LA DUE
Serum glutamic pyruvic transaminase in hepatic disease: A preliminary report. Ann. intern. Med. 45 (1956) 801

108. WROBLEWSKI, F., A.E. MOORE, K. MANSO, K. SUGURIA
Mechanisms of body fluid enzyme alterations in the abscence of tissue necrosis. J. clin. Invest. 37 (1958) 943

109. WROBLEWSKI, F., E. ROSS, K. GREGORY
Isoenzymes and myocardial infarction. New Engl. J. Med. 263 (1960) 531

LEBENSLAUF

Am 9. August 1939 wurde ich als Sohn des Landwirtes Otto Mannes und dessen Ehefrau Emma, geborene Paleikat, in Frankfurt am Main geboren. Von 1946 bis 1951 besuchte ich die Volksschule in Schadeck im Oberlahnkreis. 1951 bestand ich die Aufnahmeprüfung für das Gymnasium für Jungen in Limburg/Lahn. 1955 wechselte ich auf das Gymnasium Philippinum in Weilburg/Lahn und trat 1958 in den mathematisch-naturwissenschaftlichen Zweig der dortigen Schule über. Hier bestand ich im Februar 1961 das Abitur.
Vom 4. 4. 1961 bis 10. 4. 1962 war ich Angehöriger der Bundeswehr in Ingolstadt/Donau, München und Ellwangen/Jagst.
Im Sommersemester 1962 immatrikulierte ich mich an der Johann-Wolfgang von Goethe-Universität zu Frankfurt in der medizinischen Fakultät. Dort bestand ich am 29. 3. 1963 die naturwissenschaftliche Vorprüfung. Zum Sommersemester 1965 verließ ich Frankfurt/Main und ging an die Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg, wo ich am 10. 3. 66 die ärztliche Vorprüfung ablegte. Mein klinisches Studim absolvierte ich an der Bayrischen Julius-Maximilians-Universität zu Würzburg. Hier bestand ich am 30. 7. 1969 die ärztliche Prüfung. Seit dem 1. 9. 1969 arbeite ich im St. Vincenz-Hospital zu Limburg/Lahn als Medizinalassistent in der chirurgischen Abteilung.

Ich versichere ehrenwörtlich, daß ich die vorliegende Arbeit selbständig verfaßt und außer der angegebenen Literatur keine weiteren Hilsquellen benützt habe.

Ich versichere ehrenwörtlich, daß ich bisher von keiner anderen Seite ein Dissertationsthema zur endgültigen Bearbeitung erhalten habe.

Heinrich Mannes

Offset-Druck Gugel, Würzburg
Marcusstraße 10

Offset-Druck Gugel, Würzburg
Marcusstraße 10